



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



HİDROLİZE KOLAJEN PEPTİT İÇEREN TOZ
İÇECEK KARIŞIMLARININ ÜRETİMİ VE
BAZI ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ali İLHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Temmuz-2023
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Ali İLHAN tarafından hazırlanan “Hidrolize Kolajen Peptit İçeren Toz İçecek Karışımlarının Üretimi ve Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 11/07/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. Selman TÜRKER

Danışman

Doç. Dr. İsmail TONTUL

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Ali Samet BABAOĞLU

İmza

.....

.....

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/.../2023 gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Şerife Yurdagül KUMCU
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Ali İLHAN

Tarih: Temmuz 2023

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİDROLİZE KOLAJEN PEPTİT İÇEREN TOZ İÇECEK KARIŞIMLARININ ÜRETİMİ VE BAZI ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ali İLHAN

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman: Doç. Dr. İsmail TONTUL

2023, 59 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Selman TÜRKER
Doç. Dr. İsmail TONTUL
Dr. Öğr. Üyesi Ali Samet BABAOĞLU

Bu çalışmada kolajen tüketiminin alternatif bir yolu olarak kolajen peptit içeren sıcak çikolata ve kahve karışımlarının formülasyonu optimize edilmiştir. Sıcak çikolata ürünlerinde kakao tozu, şeker, ksantan zatkı, hidrolize kolajen ve β -glukan kullanılmıştır. Kahve ürünlerinde ise kahve, hidrolize kolajen ve β -glukan kullanılmıştır. Üretilen kahve ve sıcak çikolataların fiziksel özelliklerini (nem içeriği, su aktivitesi, higroskopisite, renk, yığın yoğunluğu ve akış özellikleri) belirlemek için çeşitli analizler yapılmıştır. Ayrıca en uygun formülasyonu belirlemek için duyu analizler gerçekleştirilmiştir. Duyusal analizlerde örneklerin çözünür özellikleri, görünüş ve renk, kıvam, tat, koku ve genel beğeni parametreleri değerlendirilmiştir. Optimizasyon çalışmaları belirlenen en iyi kolajen içeren sıcak çikolata formülasyonu %59.4 kakao, %36.7 şeker, %0.9 ksantan zatkıdır. Bu formülasyon ayrıca bir serviste (30 g) 10 g hidrolize kolajen peptit ve 0,5 g β -glukan içermektedir. Kolajen içeren kahve için belirlenen en uygun formülasyon ise 2 g çözünebilir kahve, 2.5 g hidrolize kolajen peptit ve 0.25 g β -glukan'dır. Kolajen hidrolizatının hem sıcak çikolata hem de kahve formülasyonlarıyla tüketilebilirliği oldukça yüksek bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Hidrolize kolajen, kahve, kakao tozu, sıcak çikolata, ksantan zatkı, şeker, β -glukan.

ABSTRACT

MS THESIS

PRODUCTION OF INSTANT BEVERAGES CONTAINING HYDROLYZED COLLAGEN PEPTIDES AND DETERMINATION OF SOME PROPERTIES

Ali İLHAN

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN FOOD ENGINEERING**

Advisor: Assoc. Prof. Dr. İsmail TONTUL

2023, 59 Pages

Jury

Prof. Dr. Selman TÜRKER

Assoc. Prof. Dr. İsmail TONTUL

Assist. Prof. Dr. Ali Samet BABAOĞLU

In this study, an alternative to the hydrolyzed collagen consumables, the new functional products usable in hot chocolate and coffee expenditures were investigated. Various experiments were applied and conclusions were made to determine the physical and chemical properties of the coffee and hot chocolate that stimulate pleasure sensory on humans. The methodology includes analysis with extensive examination on the substances with different rates as well as augmenting the hydrolyzed collagen to the formula. Cocoa powder, sugar, xanthan gum, hydrolyzed collagen and β -glucan were some of the admixtures tested on hot chocolate. For the coffee, hydrolyzed collagen and β -glucan were used. Moisture ratio, water activity, hygroscopicity, color, density and sensory properties were analyzed in the powder sample mixtures produced. For each sample, as part of the sensory analysis, 50 mL of hot milk in hot chocolate; 50 ml of hot water is used for coffee. The sensory and visual analysis were conducted on instant products' properties, appearance and color, consistency, taste, smell and general taste parameters. As a result, the best powder drink mix was used in terms of the component ratios and sensory properties of hot chocolate and coffee mixtures. According to the results of sensory analysis, it was determined that the inclusion of collagen and β -glucan in powder formulations did not adversely affect it. Consumption of collagen hydrolyzate with both hot chocolate and coffee formulations was found to be acceptable.

Keywords: Coffee, cocoa powder, hydrolyzed collagen, hot chocolate, xanthan gum, sugar, β -glucan.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince maddi ve manevi yardımlarını eksik etmeyen, tecrübeleri ile bana ışık tutan kıymetli danışman hocam Doç. Dr. İsmail Tontul'a,

Tezimin hazırlanması sırasında, yardımlarını, desteğini ve fikirlerini esirgemeyen ve çalışmamın her aşamasında destek olan, anlayış gösteren ve bilgilerini paylaşarak bana yol gösteren Araştırma Görevlisi Vildan Eyiz'e,

Yüksek lisans eğitimim süresince desteklerini ve paylaşımlarını sunan Dr. Ayşenur Acar'a ve Dr. Mine Aslan'a,

Tez çalışmalarım süresince yanımda olup tezimin her aşamasında destekte bulunan yüksek lisans öğrencisi Canan Kuru'ya ve tez çalışmalarımda emeği geçen, duyuşal analizlerde testleri gerçekleştiren lisans öğrencilerine, tüm içtenliğimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ali İLHAN
KONYA-2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Kolajen.....	3
2.2. Kolajenin Jelatine Dönüşümü	6
2.3. Hidrolize Kolajen.....	6
2.4. Kolajen Hidrolizatının Gıdalarda Kullanımı	7
2.5. Yenilebilir Film ve Kaplamalarda Kullanımı	10
2.6. Kolajen Hidrolizatının Emülsiyon Kabiliyeti	11
2.7. Köpürme Oluşumu ve Stabilizasyon	12
2.8. Fonksiyonel Gıdalarda Kolajen Hidrolizatlarının Uygulamaları.....	12
2.9. Hidrolize Kolajenin Sağlık Alanında Kullanımı	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Materyal	17
3.2. Yöntem.....	17
3.2.1. Deneme deseni	17
3.3. Analizler.....	19
3.3.1. Nem miktarı ve su aktivitesi analizleri	19
3.3.2. Renk analizi	19
3.3.3. Yığın yoğunluğu analizi.....	20
3.3.4. Higroskopisite	21
3.3.5. Duyusal analiz.....	22
3.3.6. İstatistiksel analizler	23
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	24
4.1. Sıcak Çikolata	24
4.1.1. Nem içeriği, su aktivitesi ve higroskopisite.....	24
4.1.2. Renk	25
4.1.3. Yığın yoğunluğu ve akış özellikleri.....	27
4.1.4. Duyusal özellikler	28
4.1.5. Optimizasyon ve doğrulama	43
4.2. Kolajenli Kahve	44
4.2.1. Nem miktarı, su aktivitesi ve higroskopisite	44

4.2.2. Renk	45
4.2.3. Yığın yoğunluğu ve akış özellikleri	46
4.2.4. Duyusal özellikler	47
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	48
5.1 Sonuçlar	48
5.2 Öneriler	49
6. KAYNAKLAR	51



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

a^* : (+) kırmızı, (-) yeşil renk değeri
ah: Örnek miktarı
 a_w : Su aktivitesi
 b^* : (+) sarı, (-) mavi renk değeri
 C^* : doygunluk değeri
cm : Santimetre
 cm^3 : Santimetre küp
Da : Dalton
g : Gram, yerçekimi kuvveti
 g/cm^3 : Gram/ santimetreküp
g/gün: Gram/gün
 h^o : Ton açısı
kDa : Kilo Dalton
 kg/m^3 : Kilogram / metreküp
 L^* : (0) siyah-(100) beyaz
L : Litre
mg : Miligram
mL : Mililitre
mm : Milimetre
pH : Potansiyel hidrojen
 W_i : Örneklerin başlangıçtaki nem miktarı
x : Bekleme süresinde gerçekleşen ağırlık artışı
 oC : Santigrat derece
 ρ : Yoğunluk

Kısaltmalar

CI : Carr Index (Carr İndeksi)
EAI : Emülsifiye Edici Aktivite İndeksi
ESI : Emülsifiye Edici Stabilite İndeksi
FDA : Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç Teşkilatı)
HR : Hausner Ratio (Hausner Oranı)

1. GİRİŞ

Sağlık sorunlarının artması, yaşam tarzlarının değişmesi, beslenme bilincinin artması sebebiyle fonksiyonel gıdalar, doğal ürünler ve çeşitli gıda takviye maddelerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. FDA (Gıda ve İlaç Teşkilatı)'nın tanımına göre; ürünün fonksiyonel özelliğe sahip olabilmesi için önemli oranda özel besin öğelerini içermeli, öğelerin vücuttaki fonksiyonu bilinmeli ve sağlık üzerine faydalı etkisi tespit edilmelidir (Gülmez ve Güven, 2005).

Kolajen, hayvan vücudunda bulunan en temel hücre dışı proteindir. Doku ve organların korunmasında görev almaktadır. Ayrıca hücre aralarını dolduran ve onları destekleyen kompleks bir yapıya sahip olup doku hücreleri arasındaki gerginliği ayarlamakta, su ve minerallerin tutulmasını sağlamaktadır. Kolajen insan vücudundaki proteinlerin yaklaşık %25'ini, derinin ise %75'ini oluşturmaktadır (Sharma ve ark., 2008). Endüstriyel olarak çoğunlukla deri, tendonlar, iç organlar, kemik, kırık ve bağ dokudan elde edilen kolajen, vücut tarafından fibroblast hücreleri tarafından doğal yolla üretilmektedir (Bilgin ve ark., 1991). Fonksiyonel bir bileşen olan kolajen hidrolizat, vücutta kolajen sentezini arttırmakta ve kemik/cilt sağlığı üzerine düzenleyici etki göstermektedir.

Kolajenin tespit edilmiş 20'den fazla tipi bulunmakta olup bunlardan en yaygın olanı Tip 1 kolajendir. Tip 1 kolajen hücre aralarını dolduran ve onları destekleyen kompleks yapıdaki matriksin %90'nını oluşturan organik matriksin temel elemanıdır (Nomura ve ark., 2005). Tip 1 kolajen, kemik, deri ve tendon gibi dokularda yaygın olarak bulunmaktadır.

Kolajen çeşitli fonksiyonel ve teknolojik özelliklerinden ötürü; gıda, biyomedikal, deri, kozmetik ve ilaç endüstrisinde kullanılmaktadır. Ayrıca jelleştirici, emülgatör, stabilizatör ve benzeri fonksiyonlara sahip jelatin de kolajenin hidrolizi ile üretilmektedir (Schrieber ve Gareis, 2007). Kolajen peptit olarak da bilinen kolajen hidrolizatı, kolajenden üretilen diğer bir üründür. Kolajenin asit ve enzimatik hidrolize edilmesi sonucu elde edilen kolajen hidrolizatı son yıllarda özellikle fonksiyonel gıdalarda, takviye edici gıdalarda ve içecek sektöründe kullanılmaktadır. Yapılan klinik çalışmalarda kolajen hidrolizatının cilt sağlığını iyileştirdiği, eklemleri güçlendirdiği, romatizma gibi rahatsızlıklarda ağrıları azalttığı ve kemik yoğunluğunu önemli oranda arttırdığı bildirilmiştir (Bilek ve Bayram, 2015).

Son yıllarda kolajen hidrolizatları gıda endüstrisinde çeşitli ürün formülasyonlarda kullanılmaktadır. Bu ürünlerin başlıcaları protein barları, müsli, cipsler ve kek karışımlarıdır. Son yıllarda kolajen hidrolizatı içeren toz içecek karışımları market raflarında satışa sunulmaktadır. Bu ürünler firmalar tarafından üretilmekte olup, bu ürünlere ilişkin bilimsel çalışmalar oldukça kısıtlıdır.

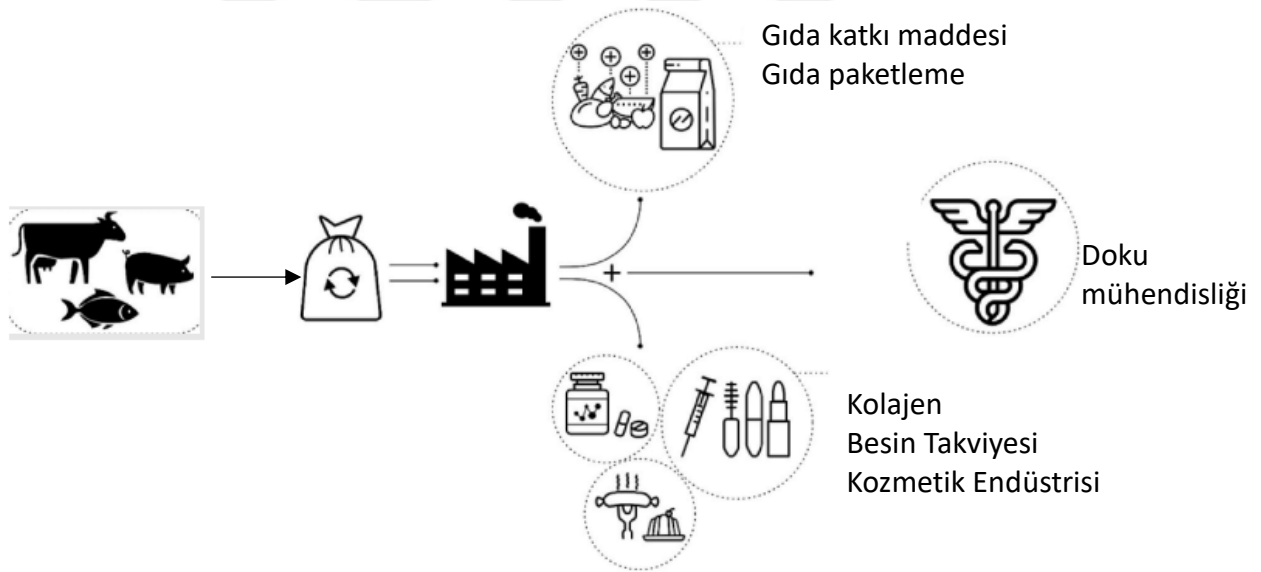
Bu çalışmada hidrolize kolajen peptit içeren sıcak çikolata ve çözünür kahve formülasyonlarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Böylece kolajen hidrolizat içeren takviye edici gıdaları tüketemeyen tüketiciler için yeni ürünler ve gıda üreticileri için önemli veriler elde edilmiştir.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Kolajen

Kökeni 19. Yüzyıla dayanan Fransızca bir terim olan kolajen, Yunanca'da yapışkan anlamına gelen “kola” kelimesine doğum anlamına gelen “-yevos” ekinin birleşmesi ile oluşturulmuştur (Van der Rest ve ark., 1991; Jain ve ark., 2014). Kolajen fibröz bir protein olup tendon, deri, kıkırdak, bağ, diş, kemik, kan damarları vb. çeşitli dokuların en büyük bileşenidir. İnsan ve hayvanlarda toplam proteinin yaklaşık olarak dörtte birini teşkil eder (Güllüce, 2016). Gıda olarak tüketilen çiftlik hayvanları, kümes hayvanları ve balık gibi hayvanların kesimi ve işlenmesinden kaynaklanan yan ürünleri yoğun olarak kolajen içermektedir. Bu nedenle, bu yan ürünlerin kolajen üretiminde kullanılması, katma değerli ürünlerin üretiminde önemli fırsatlar sunmaktadır.



Şekil 2.1. Kolajenin gıda ve biyomedikal uygulamaları

Kolajenin üçlü heliks yapısı kimyasal olarak Ramachandran ve Kartha (1954) tarafından belirlenmiş ve ‘Madras Heliksi’ olarak adlandırılmıştır. Rich ve Crick (1955) tarafından bu yapı düzenlenmiş ve günümüzde kabul edilen yapı ortaya konulmuştur (Jain ve ark., 2014).

Üç polipeptitten oluşan sarmal yapıdaki kolajen, fonksiyonel açıdan yapısal proteindir (Anon., 2012a). Kolajen, moleküler yapısındaki farklılıklara göre 7 sınıfa ayrılmaktadır (Anon., 2012b). Bu sınıflar içerisinde ise farklı dokularda belirli işlevleri

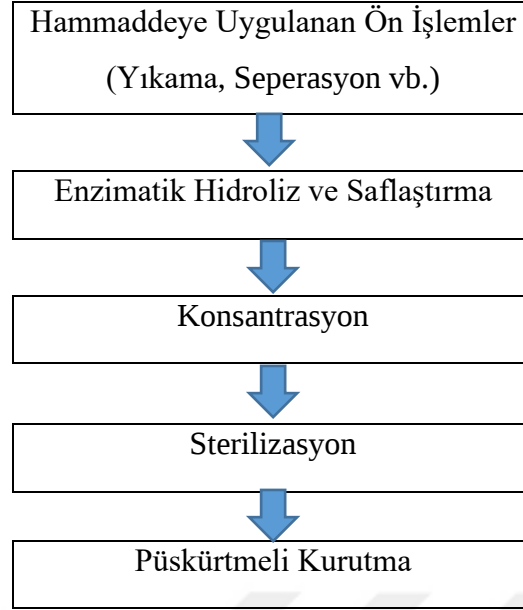
yerine getiren 20'den fazla tipte kolajen bulunmaktadır (Culav ve ark., 1999). Liflerden oluşan kolajenlere lifli kolajenler denir. Bunlar Tip I, II, III, V ve XI 'dir. Diğer kolajen tipleri tabakalardan veya ağ yapılardan oluşmaları sebebiyle genellikle lifli olmayan kolajenler olarak adlandırılırlar (Anon., 2013a). Kolajen tipleri içerisinde en yaygın olan ve bağ dokuda bulunan Tip I ve Tip III kolajenlerinin deriye direnç sağlama işlevi vardır (Miller ve Gay, 1987). Tip I kolajen ayrıca, göz ve kıkırdak dokunun yapısında bulunmaktadır (Anon., 2012c). Çizelge 2.1'de Tip I, II ve III'e ait bazı özellikler özetlenmiştir.

Çizelge 2.1. Tip I, II ve III kolajenlere ilişkin genel özellikler (Culav ve ark.,1999).

Tip	Tanım
Tip I	Yaygın olarak deri, kemik ve tendonlar gibi bağ dokularda bulunur.
Tip II	Özellikle kıkırdak dokularda bulunmaktadır.
Tip III	Miktarı yaşa bağlıdır. Genç deri %50 oranına kadar içerirken, yaş ilerledikçe %5-10 değerine kadar düşer.
Diğer Tipler	Çok düşük miktarlarda bulunur ve bunlar organlara özgüdür.

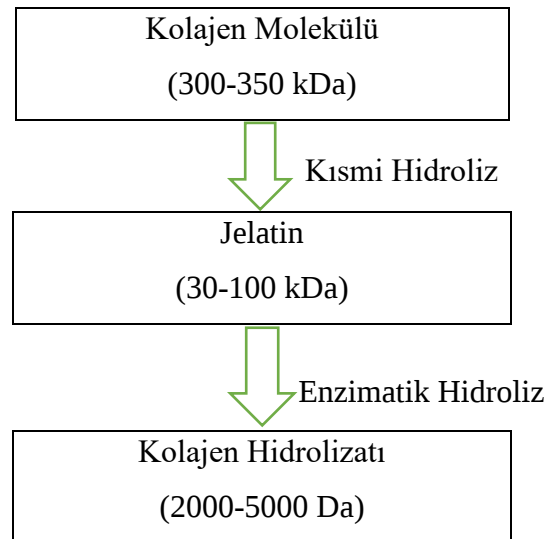
Vücutta yer alan kolajenaz enziminin etkisi ile kolajen amino asitlere parçalanmaktadır. Gerçekleşen bu durum, kolajeni eksikliğine bağlı sağlık sorunlarının oluşmasına neden olmaktadır. Bu olumsuz etki kolajenaz enzimini inhibe eden antioksidanlar (özellikle C vitamini) tarafından engellenmektedir. Kolajen hidrolizatının antioksidan maddelerce zengin gıdalarla birlikte kullanılmasının sinerjistik etki gösterdiği bildirilmiştir (Betty ve ark., 2001).

Kolajen hidrolizat üretim prosesi; asit/alkali yıkama ile ekstraksiyon, separasyon, saflaştırma, enzimatik hidroliz, konsantrasyon, sterilizasyon ve son aşama olarak da püskürtmeli kurutma işlemlerini içermektedir (Ata ve Tavman, 2019; Anonim, 2022). Kolajen üretimi için kullanılan ekstraksiyon yöntemleri hammaddeye göre farklılık gösterebilmektedir. Kolajen hidrolizat prosesine ait üretim akış şeması Şekil 2.2'de verilmiştir.



Şekil 2.2. Kolajen hidrolizatının üretim akış şeması

Kolajen molekülü 300-350 kDa molekül ağırlığında ve suda çözünmeyen bir yapıya sahip olup kısmi hidrolizi ile jelatin elde edilmektedir. 30-100 kDa molekül ağırlığına sahip olan jelatin suda çözünür özellikte olup, jel oluşturma yeteneğine sahiptir. Jelatinin enzimatik hidrolizi sonucu ise 2000-6000 Da molekül ağırlığındaki kolajen hidrolizatı elde edilmektedir. Kolajen hidrolizatı soğuk suda çözünebilme, düşük viskozite, düşük su tutma kapasitesi ve jel yapı oluşturmama gibi birçok farklı özellikler göstermektedir (Tazeoğlu, 2022). Kolajen proteini, jelatin ve kolajen hidrolizatın molekül ağırlıklarının karşılaştırılması Şekil 2.3'te verilmiştir.



Şekil 2.3. Kolajen, jelatin ve kolajen hidrolizatı molekül ağırlıkları

2.2. Kolajenin Jelatine Dönüşümü

Jelatin; kemik, deri ve ligamentler gibi hayvansal kaynaklı dokulardan alkali veya asit ile ekstrakte edilen protein yapıda bir üründür. Kolajenin kısmi hidrolizasyonu sonucu elde edilir (Schrieber ve Gareis, 2007). Jelatin elde ediniminde kullanılan önemli kaynaklar, domuz ve sığır kemikleri (%23.1), domuz derisi (%46) ve sığır derisi (%29.4)'dir. Balık da bir jelatin kaynağıdır fakat toplam jelatin üretiminin %1.5'inden azı balık kaynaklıdır (Gomez-Guillen ve ark., 2011). Ekstraksiyon sırasında uygulanan ısı işlemler ve alkali veya asit ile ön muamele moleküller arası ve moleküller içi hidrojen ve kovalent bağlarını yıkıma uğratmakta veya zayıflatmaktadır. Bu yıkım sonucu kolajenin üçlü sarmal yapısı bozulmaktadır. Ayrıca zaman zaman amino asitler arasında kopmalar meydana gelmekte ve bu sayede sarmal olan yapı çubuk şeklinden yumak şeklinde bir yapıya dönüşmektedir. Bu yapı ise çözünür özellikteki jelatinin ilk yapısıdır. Bunu takiben kolajen molekülünde yer alan bazı bağlar yıkıma uğramaktadır (Yetim, 2011). Bu aşamalar sonucunda suda çözünmeyen kolajen kısmi hidrolizasyona uğramakta ve daha küçük boyutlara ayrılmaktadır. Böylece suda çözünür hale getirilmekte ve en iyi jelleşme özelliğine sahip jelatin elde edilmektedir (Schrieber ve Gareis, 2007; Duconseille ve ark., 2015).

2.3. Hidrolize Kolajen

Hayvan kemik ve derilerinden elde edilen büyük molekül ağırlıklı kolajen proteinin, enzimatik veya asidik hidroliz yolu ile parçalanmasıyla meydana gelen daha küçük molekül ağırlıklı, suda çözünür yapıya hidrolize kolajen denir (Hunter, 2011).

Hidrolize kolajen (kolajen peptit) balık, domuz ve sığır derisi, tendon ve ligamentlerinden elde edilmektedir. Hidrolize kolajenler, kolajenlerin enzimatik hidrolizi sonucu 2000 ila 5000 Da arasında düşük molekül ağırlığına sahip moleküllerdir. 2000 Da molekül ağırlığına sahip kolajen peptitler 5000 Da molekül ağırlığındaki kolajen peptitlere göre daha iyi emilim ve biyoyararlılığa sahiptir. Bu sebeple gıda formülasyonlarında 2000 Da ağırlığındaki hidrolize kolajenlerin kullanımı önerilmektedir (Moskowitz, 2000). Kolajen hidrolizatı, 9'u esansiyel olan 18 farklı amino asit içermektedir. En fazla bulunan amino asitler ise glisin, prolin ve hidroksiprolindir (Anonim, 2022).

2.4. Kolajen Hidrolizatının Gıdalarda Kullanımı

Katkı maddeleri, gıdaların rengini, tekstürünü, lezzetini, besleyici özelliklerini veya kalitesini geliştirmek için işleme sırasında gıdalara eklenen maddeleri ifade eder. Gıda katkı maddelerine örnek olarak antioksidanlar, emülgatörler, kıvam vericiler, koruyucular ve renklendiriciler verilebilir (Neklyudov, 2003; Hashim ve ark., 2015).

Kolajen ve türevleri çeşitli fonksiyonel özelliklere ve biyoaktivitelere sahiptir (Gomez-Guillen ve ark., 2011). Bu özellikler, kolajen ve türevlerine gıda katkı maddeleri, gıda paketlenme ve muhafaza malzemeleri ve fonksiyonel gıda bileşenlerinin uygulamalarında önem kazandırmaktadır. Kolajen gıda işlemede gıda kalitesini iyileştirmek için gıda katkı maddesi olarak kullanılabilir (Irastorza ve ark., 2021). Örneğin, sosislere ve jambonlara bağlayıcı ve genişletici olarak kolajen eklenmesinin, ürünlerin soğuk depolama ve pişirme sırasında bağlama özelliklerini (arındırma ve pişirme kayıpları) iyileştirebildiği bildirilmiştir (Prabhu ve ark., 2004). Bitkisel protein yerine kolajen kullanımı ile, tavuk jambonlarının presleme ve çözülme kaybı azaltılır ayrıca iyi duyu özellikleri de daha iyi korunur (Prestes ve ark., 2013).

Kolajen hidrolizat üretiminde deri, kemik, kıkırdak ve tendonlardan elde edilmiş kolajen veya jelatin kullanılmaktadır (Gómez-Guillén ve ark., 2011). Ticari olarak genellikle sığır ve domuzdan elde edilmektedir (Gauza-Włodarczyk ve ark., 2017). Ancak, deli dana hastalığı (BSE), ayak-ağız hastalığı gibi sığırlarda görülen problemler ve dini inançlara dayalı kısıtlamalar üreticileri kolajen elde edilebilecek farklı hammadde arayışlarına yöneltmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, kolajen bakımından zengin deri, pul ve yüzgeç vb. balık yan ürünleri kolajen eldesi için alternatif bir kaynak olarak görülmektedir. Balık kaynaklı kolajen hidrolizatlarının biyoyararlılığının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, fonksiyonel içeceklerde balık kaynaklı kolajen hidrolizatları daha çok tercih edilmektedir (Yetim, 2011). Bunun yanı sıra kolajenin, kümes hayvanlarının kesim atıklarından da elde edilebildiği yapılan çalışmalarla ortaya konmaktadır (Ata ve Tavman. 2019; Anonim, 2022).

Kolajen ayrıca biyoaktif ajanlar için taşıyıcılar olarak da işlev görebilir. Waszkowiak ve Dolata yaptıkları bir çalışmada (2007) biberiye ekstraktının kolajen taşıyıcılarda kapsüllendikten sonra depolama sırasında sosislerin lipid oksidasyonunu inhibe etmede daha iyi bir antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Kim ve ark. (2018) yaptıkları bir çalışmada domuz sırt yağı ikamesi olarak tavuk köftelerine buğday filizi ve kolajen emülsiyonunun eklenmesinin, pişirme kaybını

azaltmaya yardımcı olduğunu, aynı zamanda uygun bir ikame oranında (%40) tavuk köftelerinin duysal özelliklerini koruduğunu belirtmiştir. Sousa ve ark. (2017) yaptıkları bir çalışmada domuz sırt yağının ticari kolajen hidrolizatlarla kısmen değiştirilmesi (% 25-75) ile sosislerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin iyileştiği ve ikame oranının artmasıyla ürünlerin su tutma kapasitesi, emülsiyon stabilitesi ve doku özelliklerinin daha iyi hale geldiği tespit edilmiştir.

Kolajen lifleri, gıda endüstrisinde, özellikle asitli gıdalarda iyi bir emülgatördür (Santana ve ark., 2011). Gıdada çözünen hidrolize kolajen genellikle koku ve tat vermez. Fakat balıktan sentez edilen hidrolize kolajenin gıdalara ilave edilmesi halinde konsantrasyona bağlı olarak koku gibi sorunların görülebildiği bildirilmiştir (Allard ve ark., 2003).

Yavaş ve ark. (2019), morina balığı (*Godus morhua*) derisinden elde edilen ticari kolajenin farklı oranlarda (%0.5, %1, %2.5, %5, %7) meyve aromalı toz içeceğe eklenmesinin duysal özelliklere ve depolama süresince bazı fiziksel, biyokimyasal ve mikrobiyolojik özellikler üzerine etkisini çalışmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda balık kolajenin koku ve yağ içeriği gibi fiziksel ve biyofiziksel özellikleri göz önünde bulundurularak en uygun katkılama oranı %5 olarak belirlenmiştir. Panelistler %7 kolajen içeren toz içekte, tat açısından yağlı, kimyasala benzer tat, damakta pütürlü ve tortulu his olarak tanımlamalarda bulunmuş olup, tüketilebilirlik açısından uygun bulunmamıştır. Bu sonucun balık derisinden elde edilen kolajende bulunan yağ ve balıksı tadın tüketicilerde olumsuz etki bırakmasından kaynaklandığı olarak bildirilmiştir.

Palamutoglu ve Kasnak (2019) yaptıkları bir çalışmada, köftelere ticari balık kolajen hidrolizatlarının eklenmesinin lipid oksidasyonunu engellediğini rapor edilmiştir. Ayrıca kolajen hidrolizatların balık kokusunun formülasyondaki baharatlar tarafından maskelendiğini belirtmişlerdir.

Glutensiz erişte ve bisküvilere balık derisinden elde edilen kolajen hidrolizatların eklenmesi ile ürünlerin protein içeriği ve antioksidan potansiyelinin artırıldığı çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Wang ve ark., 2013; Wangtueai ve ark., 2020; Kumar ve ark., 2019a).

Yeni bir ürün geliştirmede kolajen hidrolizatı kullanılması sırasında diğer bileşenlerle etkileşim göz önünde bulundurulmalıdır. Örneğin, kolajen hidrolizatının antosiyanin içeriği yüksek ürünlerde kullanımında bulanıklık gibi teknolojik sorunlar görülebilmektedir.

Bayram (2013) kolajen içerikli meyve suyu üzerine yaptığı bir çalışmada piyasada satışa sunulan ve konsantrelerin geri sulandırılmasıyla elde edilen pastörize %100 elma, limon, portakal ve üzüm kullanılmıştır. Çalışma sonucunda düşük viskozitesi ve suda yüksek çözünürlüğü nedeniyle kolajen hidrolizat eklenmesinin ürünün protein içeriğini belirgin şekilde yükselttiği ve %2.5'e kadar hidrolize kolajen ikamesinin protein alımını artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca hidrolize kolajenin biyoyararlanımı ve tüketici kabul edilebilirliği konusunda portakal suyu formülasyonunun en iyi sonuçlar verdiği belirtilmiştir.

Dünya genelinde son zamanlarda kolajen katkılı içecekler üretilmeye ve tercih edilmeye başlanmıştır. Kolajen hidrolizatı yüksek sıcaklığa dayanıklı bir yapıya sahiptir. Bu sebeple zenginleştirme yapıldığı gıda ürünleri pastörize edilebilmektedir (Rousselot, 2011). Dolayısıyla tüm bu faktörler göz önünde bulundurularak kolajen hidrolizatı içeren yeni ürünlerin geliştirilmesi, ürün kalitesinin duysal kabul edilebilirliği ve besin içeriğinin yüksek olması için işlem koşullarının optimize edilmesi gerekmektedir.

Nestle Malaysia balık kaynağından elde edilmiş kolajen hidrolizat içeren bir çözünebilir kahve formülasyonu geliştirmiştir. Malezya Süt Endüstrileri besleyici probiyotik içeceklerine kolajen peptitler ekleyerek yeni fonksiyonel bir ürün geliştirmiştir (Soo ve Tan, 2009).

Bhagwat ve Dandge (2018) tarafından yapılan bir çalışmada manda sütüne kolajen eklenerek süt bazlı bir gıda ürünü (paneer) geliştirilmiştir. Kolajen ilavesinin ürünün protein içeriğini artırdığı ve ürünün iyi bir kıvam ve duysal niteliklere sahip olduğu belirtilmiştir.

Başka bir çalışmada, probiyotik fermente süte ticari kolajen hidrolizatların eklenmesi ile, ürünün sertliği ve yapışkanlığını artırmış, sineresisi azaltmış ve 21 günlük depolama sırasında *Bifidobacterium bifidum* BB-12'nin hayatta kalmasını sağlamıştır (Znamirowska ve ark., 2020). Meyve sularına %2.5 hidrolize balık kolajeni ilavesi, ürünün biyoyararlılığını ve protein içeriğini zenginleştirmiştir (Bilek ve Bayram, 2015).

Üçlü sarmal ve çubuk benzeri yapısı termal olarak kararsız olan kolajen; maya ve diğer çözünmeyen partiküllerin birikmesi ile bulanık alkollü içeceklerde berraklaştırıcı bir ajan olarak da kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 2006). Hickman ve ark. (2000) sığır kolajen çözeltilerinin kimyasal modifikasyon ile biraların ve maya preparatlarının rafine edilmesinde yararlı olabilecek bir madde geliştirmiştir.

2.5. Yenilebilir Film ve Kaplamalarda Kullanımı

Kolajenler, protein yan zincirlerinin yüklü gruplarından ve hidrofilik ve/veya hidrofobik gruplarından kaynaklanabilecek emülsifiye etme, köpürme ve film oluşturma özellikleri gibi yüzey davranışlarıyla ilgili özelliklere sahiptir (Gomez-Guillen ve ark., 2011). Kolajenin bu fonksiyonel özellikleri, kaynaktan ve ekstraksiyon sürecinden önemli düzeyde etkilenir (Ahmad ve ark., 2017).

Kolajenin, gıda paketlenme ve muhafazasında biyolojik olarak parçalanamayan plastik ambalaj malzemelerinin yerini alma potansiyeline sahip iyi bir film oluşturu malzeme olduğu rapor edilmiştir (Ma ve ark., 2020). Kolajen filmler, gıda ürünlerinde yapısal bütünlük ve buhar geçirgenliği sağlarken; oksijen, nem ve diğer çözünenler için ise bariyer özelliği gösterirler (Greene, 2003; Bourtoom, 2008; Dahm, 2011). Kolajen filmler et endüstrisinde yaygın olarak kullanılmakta olup, ticari olarak mevcut olan yenilebilir protein filmlerinden birisidir. Genel olarak kolajen, sosis üretiminde kullanılan kılıfların üretimi için iyi bir malzemedir. Nitekim kolajen sürekli işlemede mekanik işleme uyum sağlamak için büzülebilen ve esneyebilen stabil ağları kolaylıkla oluşturabilmektedirler (Oechsle ve ark., 2016). Bu nedenle sosisler için de doğal kılıflara alternatif olarak kullanılmaktadır (Kutas, 1987). Kolajen kılıflara doldurulan sosisin pişme özellikleri ve yumuşaklığı, doğal kılıflardakine benzer özellik göstermektedir (Suurs ve Barbut, 2020). Kolajen kılıflar, oksijen ve su buharının sosislerle doğrudan temasını engellemekte ve sosisin sızmasını azaltmaktadır (Lee ve ark., 2019). Ancak doldurma veya pişirme sırasında kolajen kılıfların yırtılması veya et dolgusundan ayrılması ve kolajen filmlerin suda şişme oranının yüksek olması gibi bazı uygulama sorunları da bulunmaktadır (Chen ve ark., 2019).

Ayrıca, kolajen filmler, iyi bariyer ve mekanik özelliklerinden dolayı çeşitli şekerlemelerde yenilebilir sargılar olarak da başarıyla kullanılmıştır (Xu ve ark., 2020).

Greene (2003), işlenmiş kümes hayvanı yağı ile yapılan kuru evcil hayvan gıdalarında kolajen kaplamaların lezzetin korunması üzerine etkisini incelemiştir. Çalışma sırasında, tavuk derilerinden ekstrakte edilen kolajen, asidik bir çözeltiye batırılıp kuru kedi mamasına uygulanmış ve kurutularak kaplama gerçekleştirilmiştir. Kolajen kaplamaların kümes hayvanlarının yağının oksidasyonunu engellediği bulunmuştur.

2.6. Kolajen Hidrolizatının Emülsiyon Kabiliyeti

Emülsiyon, birbirine karışmayan iki sıvıdan oluşan bir sistem olarak tanımlanabilir. Bu sistemdeki sıvılardan birisi (dağılmış faz) diğesinde (sürekli faz) damlacıklar şeklinde dağılmıştır (Zhang, Xu ve ark., 2020). Emülsiyonlar birçok gıda sisteminde (mayonez, dondurma ve süt gibi) bulunmaktadır. Emülsiyon içeren gıdalarda, arayüzey gerilimini düşüren emülgatörler kullanılarak faz ayrımı gibi olumsuzluklar azaltılır (Kumar ve ark., 2019b). Emülgatörler, gıda üretiminde önemli bir yere sahip olan yüzey aktif maddelerdir. Bunlar hem emülsiyon oluşumunu kolaylaştırır hem de emülsiyon stabilitesini iyileştirmeye yardımcı olurlar (Liu ve ark., 2018).

Çözünmeyen bir protein olarak kolajenin genellikle emülsifiye edici özelliklerinin olmadığı kabul edilir (Gomez-Guillen ve ark., 2011). Bununla birlikte, işleme sırasında kolajen hidrolizatı veya jelatin gibi çözünür formlara dönüştürülmesi ile emülsifiye edici özellikler kazanmaktadır (Akram ve Zhang, 2020; Tümerkan ve ark., 2019). Yeterli hidrofilik ve hidrofobik amino asit kalıntıları içeren kolajen hidrolizat veya jelatin, yağ-su arayüzlerini stabilize edebilmekte ve emülsifikasyon sırasında arayüzey gerginliğini azaltarak emülsiyon oluşumunu kolaylaştırabilmektedir (Tan ve ark., 2020). Ayrıca damlacıklar arasında elektrostatik itme oluşturarak ve/veya dağılmış fazların toplanmasını önlemek için dağılan fazların etrafında arayüzey zarları oluşturarak emülsiyon stabilitesini geliştirirler (Surh ve ark., 2006).

Farklı türlerden elde edilen çözünür kolajenler, emülsifiye edici aktivite indeksi (EAI) ve emülsifiye edici stabilite indeksi (ESI) ile ölçülebilen farklı emülsiyon oluşumu ve stabilizasyon potansiyeline sahiptir (Zhang ve ark., 2020). Örneğin balıktan elde edilen kolajenlerin, sığır ve domuzdan elde edilen kolajenlere göre daha az emülsifiye etme kabiliyetine sahip olduğu belirlenmiştir (Gomez-Guillen ve ark., 2011).

Santana ve ark. (2011) ısıt işlem görmüş kolajen lifinin, özellikle asidik ürünlerde emülgatör olarak kullanım için iyi bir potansiyele sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Balık derisinden ve kemiklerinden elde edilen kolajen hidrolizatlarının, yarı fibriler olarak bildirilen mekanizma ile tereyağı (yağ içinde su) ve çikolata sosu (su içinde yağ) gibi farklı tür emülsiyon gıdaların fiziksel raf ömrünü uzatabildiği rapor edilmiştir (Dey ve ark., 2021).

Domuz derisinden üretilen kolajen hidrolizatların, donmuş hamurun mayalanma ve pişirme özelliklerini geliştirdiği ve hamura daha yumuşak bir doku, daha büyük hacim,

daha yumuşak iç kısım ve pişirme sonrasında daha iyi bir görünüm kazandırdığı bildirilmiştir (Chen ve ark., 2017; Yu ve ark., 2020).

Köpekbalığı derisi jelatininden elde edilen kolajen hidrolizatları, donma ve çözülme işlemi sırasında protein agregasyonunu azaltarak protein denatürasyonunu önlemiştir (Kittiphattanabawon ve ark., 2012).

Kolajen hidrolizatları, donmuş dondurmanın depolama sırasında buz kristali büyümesini başarıyla engellemiş ve dondurmanın erime direncini artırarak dondurmanın pürüzsüz ve kremsi kalmasına yardımcı olmuştur (Damodaran, 2007; Damodaran ve Wang, 2017; Cao ve ark., 2016).

2.7. Köpürme Oluşumu ve Stabilizasyon

Köpük, sıvı bölgelerle ayrılmış hava kabarcıklarından oluşan iki fazlı bir sistem olarak tanımlanmaktadır (Phawaphuthanon ve ark., 2019). Çözünür kolajen hidrolizatı arayüzey gerilimini azaltarak ve hava kabarcıkları etrafında koruyucu filmler oluşturarak köpük oluşumu ve stabilizasyonu sağlar (Jing ve ark., 2019; Gomez-Guillen ve ark., 2011).

Ancak diğer proteinlerde olduğu gibi kolajenin de köpürme kapasitesi, pH izoelektrik noktaya yaklaştığında önemli düzeyde azalmaktadır. Bu pH seviyesinde, kolajen çözünmez hale gelmekte ve köpürme için gerekli protein ve su arasındaki etkileşimi azalmaktadır (Chen ve ark., 2019).

2.8. Fonksiyonel Gıdalarda Kolajen Hidrolizatlarının Uygulamaları

Kolajen hidrolizatlar, insan cilt sağlığını iyileştirmek için (örneğin, yara iyileşmesi ve cilt yaşlanması) diyet takviyeleri olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Sığır ve domuz kolajen hidrolizatları, fibroblastların ve keratinositlerin çoğalmasını artırarak insan derisinin yara iyileşmesini hızlandırmıştır (Mistry ve ark., 2021). Gümüş sazan balığı derisinden elde edilen kolajen hidrolizatlarının, yaşlanan cildi onarabileceği bildirilmiştir. Ayrıca düşük moleküler ağırlıklı kolajen hidrolizatlarının, yüksek moleküler ağırlıklara göre daha güçlü onarım etkisine sahip olduğu rapor edilmiştir (Song ve ark., 2017).

Her protein gibi hidrolize kolajen de toz formda üretilmektedir. Sıvı ürünlere ilave edilebilmekte veya tablet, kapsül, saşe şeklinde tüketime sunulabilmektedir (Anonim,

2020a). Sıvı formdaki hidrolize kolajen, toz formdaki hidrolize kolajenlere benzer özelliklere sahiptir. Kapsül formdaki hidrolize kolajenler toz ve sıvı formu olanlara göre daha az miktarda hidrolize kolajen içermektedir. Ayrıca kapsülün parçalanması ve emilimi diğer formlara kıyasla daha uzun sürmektedir (Somuncu, 2018).

Avon, Somon balığı derisi kaynaklı kolajen peptit, C vitamini ve fruktooligosakkaritler içeren sıvı formda bir takviye edici gıda üretmiştir (Najumudeen, 2012).

Kumar ve ark. (2019a) tarafından yapılan bir çalışmada balık kaynaklı kolajen peptitleri fonksiyonel bir bileşen olarak bisküvi formülasyonuna dahil edilmiş ve kolajen ilavesiyle besinsel değerinde artış meydana geldiği belirtilmiştir. Ayrıca kolajenin bisküvinin fiziksel özelliklerini olumsuz etkilemeksizin sağlıklı bir bileşen olarak kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır.

Tazeoğlu (2022) yapmış olduğu bir çalışmada farklı kolajen hidrolizatı kaynaklarının jelly tipi şekerleme ürünlerinde kullanımının kalite üzerine etkilerini incelemiştir. Protein içeriği yüksek ve fonksiyonel olarak zenginleştirilmiş jelly tipi şeker üretmeyi amaçlamıştır. Balık kolajen hidrolizatı jelly örneklerinin tekstür yapısını, görünüşünü, tat ve aromasını olumsuz etkilemiştir. Sığır kaynaklı kolajen hidrolizatın jelly örneklerinde kullanımının başarılı olduğu sonucuna varılmıştır.

Kolajen hidrolizatları, fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde giderek daha fazla kullanılmaktadır. Örneğin, kolajen hidrolizatları içeren fermente süt eklem ağrısını hafifletmeye yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Walrand ve ark., 2008).

Kolajen hidrolizatlardan ve süt proteininden yapılan oral besin takviyeleri kas kütlesi kaybını azaltmak ve yaşlılara kalori ve protein takviyesine yardımcı olmak için kullanılmaktadır (Brook ve ark., 2021).

Tometsuka ve ark. (2021), zencefil proteazı ile parçalanmış kolajen hidrolizatların tek bir oral uygulamasının kandaki trigliserit ve kolesterol içeriğini değiştirmediğini, ancak uzun süreli kullanımının (10 hafta) lipid metabolizmasını değiştirerek doku ve kan lipidlerini azaltabileceğini rapor etmiştir.

Kolajen hidrolizatlarının, yağsız kasları güçlendirebildikleri, aktiviteye bağlı diz eklemi rahatsızlıklarını hafifletebildikleri ve dayanıklılık performansını artırebildikleri için sporcu gıdaları alanında kullanılma potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir (Zdzieblik ve ark., 2017; Jendricke ve ark., 2020).

Morina derisinden elde edilen kolajen hidrolizatları, antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırarak ve lipid peroksidasyonunu azaltarak karaciğer dokusunu oksidatif hasara karşı korumaktadır (Han ve ark., 2015).

Kolajen, spor beslenme alanında da talep görmektedir. Nutrasötik endüstrisi, yağsız kasları artırabildiği, iyileşme süresini azaltabildiği, hasarlı eklemleri yeniden yapılandırabildiği ve kardiyovasküler performansı artırabildiği için bu alana yönelik diyet takviyeler sunmaktadır (Oertzen-Hagemann ve ark., 2019).

2.9. Hidrolize Kolajenin Sağlık Alanında Kullanımı

Kolajenler zayıf antijenitesi, biyouyumluluğu ve biyobozunurluğu gibi çeşitli özellikleri nedeniyle biyomedikal ve farmasötik alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Farmasötik alanlarda, enjekte edilebilir dispersiyonlar, mikropartiküller, ilaç taşıma sistemlerinde taşıyıcı olarak kullanılmaktadır (Leitinger ve Hohenester, 2007).

Kolajen peptitler, antibakteriyel, yaşlanma karşıtı, yara iyileşmesini ve hücre çoğalmasını uyaran, kemik ve eklem hastalıklarını tedavi eden ve cilt sağlığını iyileştiren çeşitli aktivitelere sahiptir (Ahmed ve ark., 2020; Daneault ve ark., 2017; Fu ve ark., 2019; Pal ve Suresh, 2016; Zhao ve ark., 2021).

Kolajen peptitlerin yağ asidi metabolizmasını ve yağ yakımını artırdığı, hipertansiyon ve hiperlipidemiye azalttığı bulunmuştur. Ayrıca, karaciğerin yağ asidi sentezini inhibe ederek hepatik yağ birikimini azalttığı görülmüştür (Ishak ve Sarbon, 2018). Öte yandan, insülin duyarlılığını artırdığı ve antioksidan özelliklerine bağlı olarak kan şekeri seviyelerini düşürdüğü görülmüştür (Lauritano ve Ianora, 2016). Bu nedenle, biyoaktif kolajen peptitler obezite ve diyabeti önlemek ve tedavi etmek, kilo kaybını azaltmak ve kan şekeri seviyesini düzenlemek için kullanılmaktadır (Astre ve ark., 2018).

Kolajen hidrolizatının kullanımıyla olumlu etkilerinden yararlanmak için günlük olarak yeterli miktarda kullanılması ve düzenli tüketilmesi gerekmektedir. Kolajen peptitler için tavsiye edilen günlük doz 10 gram olarak belirtilmiştir (Adam ve ark., 1996). Bu miktarda alım ile kemik, eklem ve cilt sağlığı üzerinde olumlu etkileri görülmüştür. Yapılan çalışmalarda takviye olarak kullanılan kolajen peptitlerin vücutta kolajen sentezini arttırdığı tespit edilmiştir.

Ohara ve ark. (2009) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada kolajen hidrolizatı kullanan kadınların ciltlerinin su tutma kapasitesi incelenmiştir. Araştırma neticesinde

kolajen hidrolizatı tüketen kadınların ciltlerinin su tutma kapasitesi değerlerinin, kolajen hidrolizatı tüketmeyen kadınlara nazaran yüksek olduğu gösterilmiştir.

Lee ve ark. (2019) yapmış olduğu bir çalışmada kolajen peptit ile kaplanmış kahve çekirdeklerinin cilt yaşlanması üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonunda kolajen peptitlerin kahve ile uzun süreli oral alımının, dermal tabakadaki fibroblastlarda prokolajen sentezini önemli ölçüde arttırdığı ve UV ışığının neden olduğu esmerleşen cilt tabakalarını azalttığı ve cildi rahatlatığı bulunmuştur. Cildin yapısındaki hasar nedeniyle oluşan cilt elastikiyetinin azalmasına ve kırışıklık oluşumunun kolaylaşmasına katkı sağladığı gözlemlenmiştir. Çalışma kahve çekirdeklerinin kolajen peptitlerle kaplanması yoluyla fonksiyonel içeceklerin geliştirilmesi için önemli bulgular sağlamıştır.

Tıp alanlarında kolajen iskeletler, kemik ve kırık rekonstrüksiyonunda önemli rol oynamaktadır. Aşılama başarısızlığı veya aşılama kaçınma durumunda, kolajen iskeletleri implante edilmektedir. Bazı hastalarda doku mühendisliği ile tasarlanmış kan damarları, vasküler ve kardiyak rekonstrüksiyon tasarlanarak aşılama başarıyla gerçekleştirilmiştir (Thottappillil ve Nair, 2015).

Kolajen peptitler, kardiyovasküler hastalıklar (hipertansiyon, T2DM ve hiperlipidemi vb.) için fonksiyonel gıdalarda kullanılma potansiyeline sahiptir. Zhuang ve ark. (2012) denizanası kolajen hidrolizatlarının böbrekteki anjiyotensin II konsantrasyonunu azaltarak renovasküler hipertansiyonlu sıçanların kan basıncını düşürebildiğini göstermişlerdir. Saito ve ark. (2009) sıçanlarda balık derisi kolajen hidrolizatlarının kan lipidleri üzerindeki etkilerini incelemiş ve kolajen hidrolizatlarının, lipid emilimini ve metabolizmasını etkileyerek plazma trigliseritlerinin geçici artışı engelleyebileceğini belirlemiştir.

Hidrolize kolajen peptitlerin gıda formülasyonlarında kullanımını konu alan sınırlı sayıda çalışma yürütülmüştür. Chai ve ark. (2011) tarafından Tayvan'da gerçekleştirilen bir çalışmada 62 kadına balıktan elde edilmiş kolajen hidrolizatının besin yoluyla alınması sonucunda fibroblast hücrelerinin gelişimi incelenmiştir. In vitro gerçekleştirilen bu çalışma, kolajen hidrolizat alımı sonrasında fibroblast hücrelerindeki aktivitenin arttığını ve vücudun doğal kolajen sentezini hızlandırdığını göstermiştir.

Kolajenin biyoaktif özelliklerine dayanarak, nemlendirici, yumuşatıcı ve parlaklık sağlayıcı, antioksidan ve UV koruyucu özelliklere sahip cilt yaşlanma karşıtı formülasyonlar gibi kozmetik ürünlerin geliştirilmesi de giderek yaygınlaşmaktadır (Abuine ve ark., 2019; Zamorano-Apodaca ve ark., 2020).

Hidrolize kolajenin nötr pH’da üstün çözünürlüğü, su bağlama özellikleri ve kolay cilt penetrasyonu (emilimi) sayesinde kozmetik olarak doğal kolajenden daha iyi etkiler sunar (Alves ve ark., 2017; Skov ve ark., 2019). Bu bağlamda, kozmetik endüstrileri deri altı enjeksiyonları ve oral takviyelerle ilgilenmektedir. Kolajen enjeksiyonları, dermatolojik kusurların yanı sıra akne izleri ve yaşlanma semptomları gibi deri altı rahatsızlıklarının onarımında yaygın olarak kullanılmaktadır (Cockerham ve Hsu, 2009). Kolajen cilde enjekte edildiğinde, fibroblastların biyosentetik kapasitesini ve optimal bir fizyolojik ortamın oluşumunu desteklemekte ve böylece hücre aktivitesini, hidrasyonu ve kolajen sentezini artırmaktadır (Ganceviciene ve ark., 2012). Benzer şekilde, oral kolajen takviyelerinin de cilt görünümü üzerindeki olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark., 2018).

Kozmetik uygulamalarının yanı sıra, son zamanlarda yapılan birkaç çalışma, kolajenin fonksiyonel gıdalarda ve sağlık uygulamalarında hap ve içecek şeklinde kullanılma potansiyelini bildirmiştir (Bilek ve Bayram, 2015; Guo ve ark., 2015; Pal ve Suresh, 2016).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Kolajenli kahve ve sıcak çikolata üretiminde kullanılan kahve, kakao, şeker ve diğer bileşenler Konya’da yerel bir firmadan temin edilmiştir. Hidrolize kolajen peptit ve beta glukan ise Mayasu Arge (Konya) firması tarafından sağlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme deseni

Kolajen içeren sıcak çikolata

Kolajen içeren sıcak çikolata karışımının her serviste 10 g kolajen peptit ve 0.5 g β -glukan içermesi hedeflenmiştir. Bu nedenle bu bileşenlerin miktarı sabit tutularak karışım desenine göre deneme deseni hazırlanmıştır. Karışım deseninin bağımsız değişkenleri olarak kakao tozu (396-597 g), şeker (394-597 g) ve ksantan zamk (3-9 g) seçilmiştir. Karışım desenine göre belirlenen 16 farklı formülasyon (Çizelge 3.1) hazırlandıktan sonra içerisine her serviste istenen miktarda kolajen peptit ve β -glukan eklenmiş ve karışım homojen olana kadar karıştırılmıştır. Bir servis sıcak çikolata içeceği 30 g tozdan oluşmaktadır.

Karışımlar hazırlandıktan sonra toz halde gerçekleştirilecek analizler (nem miktarı, su aktivitesi, renk, yığın yoğunluğu, akış özellikleri ve higroskopisite) doğrudan gerçekleştirilmiştir. Duyusal analizler için ise toz ürün sıcak süt içerisinde çözündürülerek servis edilmiştir.

Çizelge 3.1. Kolajenli sıcak çikolata karışımındaki deneme deseni

Deneme	Kakao tozu	Şeker	Ksantan zatkı
1	529.3	463.7	7
2	465.7	531.3	3
3	597	400	3
4	445.5	547	7.5
5	396	597	7
6	461.7	529.3	9
7	547	448.5	4.5
8	461.7	529.3	9
9	396	597	7
10	597	394	9
11	497	497	6
12	531.3	465.7	3
13	400	597	3
14	597	394	9
15	497	497	6
16	497	497	6

Kolajen içeren kahve

Kolajen içeren kahve formülasyonu çözünebilir kahve, hidrolize kolajen peptit ve β -glukan içermektedir. Çalışmanın bu aşaması faktöriyel deneme desenine göre yürütülmüştür. Ön denemelerle belirlenen kolajen içeren kahve numunelerinin kahve, kolajen ve β -glukan miktarları Çizelge 3.2’de verilmiştir. Karışımlar hazırlandıktan sonra toz halde gerçekleştirilecek analizler (nem miktarı, su aktivitesi, renk, yığın yoğunluğu, akış özellikleri ve higroskopisite) doğrudan gerçekleştirilmiştir. Duyusal analizler için ise toz ürün sıcak su içerisinde çözündürülerek servis edilmiştir.

Çizelge 3.2. Kolajen içeren kahve için kullanılan deneme deseni (200 ml su için gerekli miktarlardır)

Deneme	Kahve	Kolajen	β -glukan
1	0.5 g (%15.3) /	2.5 g (%76.9) /	0.25 g (%7.7)
2	0.75 g (%21.4) /	2.5 g (%71.4) /	0.25 g (%7.1)
3	1 g (%26.6) /	2.5 g (%66.6) /	0.25 g (%6.7)
4	2 g (%42.1) /	2.5 g (%52.6) /	0.25 g (%5.3)

3.3. Analizler

3.3.1. Nem miktarı ve su aktivitesi analizleri

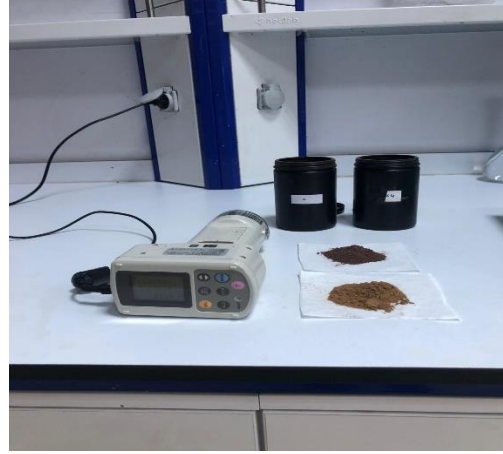
Kolajenli kahve ve sıcak çikolataların nem miktarı gravimetrik olarak 70°C’de sabit tartıma kadar kurutularak belirlenmiştir (Tontul ve ark. 2018a). Örneklerin su aktivitesi ise Novasina (Labtouch, İsviçre) su aktivitesi ölçer kullanılarak 25°C sıcaklıkta belirlenmiştir.



3.3.2. Renk analizi

Örneklerin renk değerleri Minolta CR-400 (Konica Minolta, Inc., Osaka, Japonya) cihazı kullanılarak tespit edilmiştir. L^* değeri [(0) siyah-(100) beyaz]. a^* değeri [(+) kırmızı-(-) yeşil] ve b^* değeri [(+) sarı-(-) mavi] ölçülmüştür (Francis, 1998).

C^* (Chroma) ve h^0 (Hue) parametreleri renk sistemindeki diğer parametreleri temsil eder ve silindirik bir koordinat sisteminde değerlendirilirler. L^* değeri numunenin parlaklığını ifade ederken, C^* değeri, rengin doygunluğu hakkında bilgi vermektedir ve rengin olduğu noktanın renksiz noktaya olan uzaklığını (0-60) ifade etmektedir. h^0 değeri (açı) ise rengin tonunu ifade etmektedir. h^0 parametresinin açı ve rengi arasındaki bağlantı; 0° (+ a^* : kırmızı), 90° (+ b^* : sarı), 180° (- a^* : yeşil), 270° (- b^* : mavi) şeklindedir (İpek, 2018; Keskin ve ark., 2017; Konica Minolta, 2007; Polatçı ve ark., 2017).



C^* değeri ve h^0 açısı değeri hesaplamada L^* , a^* ve b^* değerlerinden faydalanılarak Eşitlik 1 ve Eşitlik 2' de gösterilmiştir.

$$h^0 = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (\text{Eşitlik 1})$$

$$C^* = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})} \quad (\text{Eşitlik 2})$$

Renk ölçümü sıcak çikolata ve kahve toz karışımlarının yüzeyine dokundurularak beş paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir (Morello ve ark., 2004; Duangmal ve ark. 2008; Zhang ve ark., 2007).

3.3.3. Yığın yoğunluğu analizi

Yığın yoğunluğu Beristain ve ark. (2001)'a göre belirlenmiştir. Bu amaçla 10 mL'lik ölçülü silindire 2 g örnek tartılarak hacmi kaydedilmiştir. Bu ağırlık ve hacim kullanılarak yığın yoğunluğu hesaplanmıştır. Daha sonra bu silindir 30 mm mesafeden 100 kez serbest düşmeye bırakılarak örneğin son hacmi kaydedilmiştir. Örnek ağırlığının kaydedilen hacme bölünmesiyle sıkıştırılmış yığın yoğunluğu g/cm^3 cinsinden hesaplanmıştır.

Sıkıştırılmış yoğunluk ve yığın yoğunluğu değerleri kullanılarak akışkanlık özelliklerini belirlemek amacıyla Hausner oranı (Eşitlik 3) ve Carr indeksi (Eşitlik 4) hesaplanmıştır.

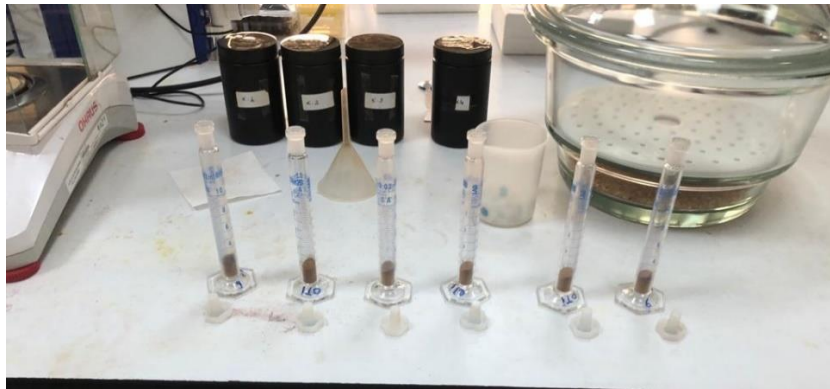
$$\text{Hausner Oranı (HR)} = \frac{\rho_{\text{sıkıştırılmış}}}{\rho_{\text{yığın}}} \quad (\text{Eşitlik 3})$$

$$Carr\ indeks\ (CI) = \frac{\rho_{sıkıştırılmış} - \rho_{yığın}}{\rho_{sıkıştırılmış}} \quad (\text{Eşitlik 4})$$

Kolajen peptit içeren kahve ve sıcak çikolatanın akışkanlığı ve yapışkanlığı sırasıyla Çizelge 3.3'te verilen Carr indeksi (CI) ve Hausner oranı (HR) açısından değerlendirilmiştir (Başyigit ve Çam, 2017).

Çizelge 3.3. Hausner Oranı (HR) ve Carr indeksine (CI) dayalı toz akışkanlığının sınıflandırılması

CI (%)	Akışkanlık	Hausner Oranı
11-15	İyi	1.12-1.18
16-20	Orta	1.19-1.25
21-25	Geçerli	1.26-1.34
26-31	Zayıf	1.35-1.45
32-37	Çok zayıf	1.46-1.59
>37	Çok kötü	HR >1.59



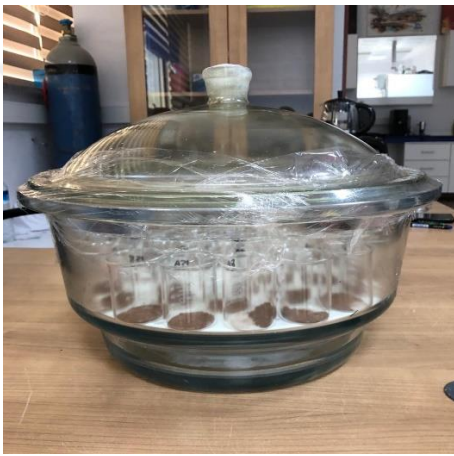
3.3.4. Higroskopisite

Yaklaşık 1 g kolajenli kahve veya sıcak çikolata toz karışımları 50 mL'lik cam beherlere tartılarak ortam bağıl neminin %79.5 olmasını sağlayacak potasyum nitrat (KNO_3)'ın doymuş tuz çözeltisi bulunan desikatörde oda sıcaklığında (25°C) 1 hafta

bekletilmiştir. 1 hafta sonunda örnekler tartılmış ve örneklerin higroskopisitesi aşağıda belirtilen eşitlik (Eşitlik 5) kullanılarak hesaplanmıştır.

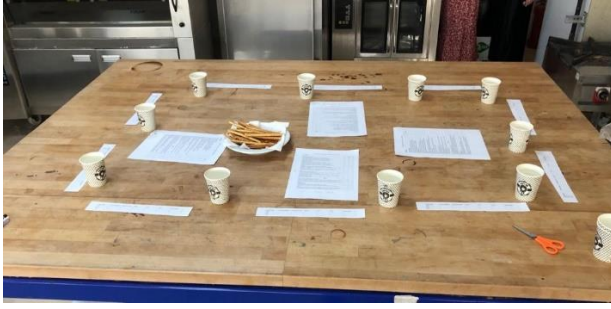
$$\text{Higroskopisite (\%)} = \frac{\frac{x}{ah} + W_i}{1 + \frac{x}{ah}} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 5})$$

Bu eşitlikte x bekletme sürecinde gerçekleşen ağırlık artışını, ah kolajenli kahve ve sıcak çikolata miktarını, W_i ise kolajenli kahve ve sıcak çikolatanın başlangıçtaki nem miktarını göstermektedir (Syamaladevi ve ark., 2012).



3.3.5. Duyusal analiz

Kahve ve sıcak çikolataların duyusal özellikleri, Gıda Mühendisliği bölümünden duyusal analizi konusunda tecrübeli 10 panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Sıcak çikolata, 90°C'ye ısıtılmış 50 mL süt içerisinde 7.5 g sıcak çikolata karışımlarının çözündürülmesiyle hazırlanmıştır. Kahve örnekleri ise 90°C'ye ısıtılmış 50 mL sıcak suya deneme desenine göre karıştırılmış kahve karışımlarının ilavesiyle hazırlanmıştır (Geel ve ark., 2005). Duyusal analizlerde örnekler 1 (Çok kötü) ila 7 aralığında değerlendirilmiş olup çözünür özellikler, görünüş ve renk, kıvam, tat, koku ve genel beğeni parametrelerine göre puanlama gerçekleştirilmiştir.



3.3.6. İstatistiksel analizler

Çalışma kapsamında sıcak çikolata formülasyonu optimizasyonu karışım desenine göre gerçekleştirilmiştir. Bu deneme desenine göre formülasyonlar hazırlanmış ve elde edilen sonuçların tamamı cevap olarak girilmiştir. Elde edilen her bir cevabın modellenabilirliği varyans analizine göre test edilmiştir. Optimum formülasyon belirlenmesinde ise sadece duyu analizi sonuçları kullanılmıştır. Buna göre duyu özellikleri istenirlik fonksiyonuna göre maksimize eden formülasyon optimum formülasyon olarak belirlenmiştir. Optimum formülasyon 3 tekerrürlü olarak üretilerek deneysel ve teorik verilerin uyumu karşılaştırılmıştır. Bu aşamada gerçekleştirilen hesaplamalar Design Expert 12 paket programı ile yürütülmüştür.

Kolajenli kahve karışımları faktöriyel deneme desenine göre hazırlanmıştır. Elde edilen verilere varyans analizi uygulanmış ve önemli farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile belirlenmiştir. Bu analizler SAS istatistik paket programı ile gerçekleştirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Sıcak Çikolata

4.1.1. Nem içeriği, su aktivitesi ve higroskopisite

Karışım desenine göre hazırlanan kolajenli sıcak çikolata karışımlarının nem, su aktivitesi ve higroskopisite değerleri Çizelge 4.1’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.1. Sıcak çikolata karışımlarının nem, su aktivitesi, higroskopisite analiz sonuçları

Deneme	Nem (%)	Su aktivitesi (a_w)	Higroskopisite (%)
1	2.22±0.02	0.205±0.001	20.19±0.47
2	2.41±0.05	0.202±0.001	20.03±0.04
3	1.84±0.80	0.200±0.001	21.05±0.6
4	2.07±0.11	0.215±0.002	20.36±0.06
5	1.90±0.18	0.208±0.015	20.5±0.09
6	1.66±0.24	0.207±0.011	20.19±0.01
7	2.32±0.13	0.208±0.014	20.71±0.32
8	2.36±0.31	0.209±0.006	20.22±0.03
9	2.28±0.08	0.219±0.009	19.97±0.1
10	1.95±0.72	0.220±0.008	20.84±0.1
11	2.55±0.27	0.229±0.016	20.71±0.08
12	3.42±1.30	0.217±0.006	21.95±0.94
13	1.98±0.36	0.200±0.003	19.49±0.16
14	2.04±0.22	0.190±0.001	21.08±0.56
15	2.07±0.06	0.186±0.002	20.98±0.05
16	1.93±0.44	0.186±0.002	20.3±0.44

Sıcak çikolata karışımlarının nem içeriği %1.66-3.42 arasında, su aktivitesi 0.186-0.229 arasında değişim göstermiştir. Nem içeriği en yüksek 12 nolu denemede gözlemlenmiştir. Bu denemenin nem içeriğinin yüksek olması, kakao tozu-şeker oranının yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ağızda parçalanan filmlere %0, 10 ve 20 oranında hidrolize kolajenin ilave edildiği bir çalışmada filmlerin nem içeriği değerlerinde önemli bir farkın görülmediği belirtilmiştir. (Borges ve ark., 2016). Vargas-Muñoz ve Kurozawa (2020) yaptıkları bir çalışmada taşıyıcı ajan olarak maltodekstrin ve hidrolize kolajen peptitlerini kullanarak kokona meyvesi posasını (tohum ve kabukları dışında) püskürtmeli kurutucuda enkapsüle etmiştir. Çalışma sonucunda maltodekstrin ve hidrolize kolajen kaplı kokona tozlarının %1.1-3.0 arasında değişen nem içeriklerinin

olduğu belirlenmiştir. Proteinlerin suyu güçlü bir şekilde bağlanma kabiliyeti nedeniyle, daha fazla miktarda hidrolize kolajen içeren tozlarda daha yüksek nem içeriklerinin olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca maltodekstrin ve hidrolize kolajen kaplı kokona meyvesi tozlarının su aktivitesi değerleri 0.142-0.248 arasında olduğunu belirtmişlerdir (Santana ve ark., 2017).

Sıcak çikolata tozlarının en yüksek su aktivitesi 11 nolu denemede elde edilmiş ve bunu 10, 9, 12 ve 4. örnekler izlemiştir (Çizelge 4.1). Gıda ürünlerinin depolama stabilitesini belirleyen kritik faktörlerden olan su aktivitesi, 0.3'ten daha düşük olduğunda gıda tozlarının mikrobiyolojik ve kimyasal güvenilirliğinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Tontul ve Topuz, 2017). Sıcak çikolata örneklerinin su aktivitesi değerleri 0.3'ün altında olduğu gözlemlenmiştir. Bu değerlere göre örneklerin depolama stabilitesi yüksek, mikrobiyal gelişimin ve biyokimyasal reaksiyonların düşük olduğunu göstermektedir.

Higroskopisite değeri %20'den fazla olan tozların, higroskopik olarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (Nurhadi ve ark., 2012). Yüksek higroskopisite, topaklanma eğiliminin artması anlamına geldiğinden, düşük olması istenmektedir (Tontul ve Topuz 2017). Çalışma kapsamında üretilen sıcak çikolata örneklerinin higroskopisitesi %19.49-21.95 aralığında değişim göstermiştir. Bu sonuç sıcak çikolata örneklerinin higroskopik olduğunu göstermektedir. Bu nedenle sıcak çikolata tozlarının nem geçirmez ambalajlarda paketlenmesi gerektiği söylenebilir.

4.1.2. Renk

Tüketici kabulünü önemli ölçüde etkileyen renk özelliği kaliteli gıdanın temel özelliklerindendir (Tontul ve ark., 2018b). Renk özellikleri genellikle L^* , a^* , b^* veya doygunluk ve ton açısı ifadeleriyle belirtilmektedir. Çalışma kapsamında elde edilen sıcak çikolata tozlarının L^* , a^* , b^* değeri, ton açısı ve doygunluk değerleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Sıcak çikolata karışımlarının renk analiz sonuçları

Deneme	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
1	45.7±0.05	7.22±0.1	14.9±0.15	64.16±0.1	16.55±0.17
2	46.75±0.15	6.82±0.04	14.42±0.04	64.69±0.07	15.95±0.06
3	45.27±0.04	7.28±0	15.11±0.01	64.27±0.03	16.77±0.01
4	45.88±0.07	7.05±0.04	14.5±0.11	64.08±0.31	16.12±0.08
5	45.97±0.02	6.96±0.01	14.61±0.03	64.52±0.08	16.19±0.02
6	44.7±0.02	7.44±0	15.17±0.06	63.86±0.09	16.89±0.05
7	44.2±0.01	7.67±0.01	15.45±0.04	63.6±0.04	17.24±0.04
8	45.49±0.05	7.26±0.03	15.24±0.03	64.54±0.04	16.88±0.04
9	47.06±0.03	6.78±0.03	15.15±0.04	65.89±0.02	16.59±0.05
10	44.73±0.07	7.41±0.01	15.63±0.04	64.64±0.07	17.29±0.03
11	46±0.07	6.89±0	15.11±0.06	65.47±0.07	16.6±0.05
12	45.4±0.06	7.05±0.01	15.16±0	65.07±0.04	16.72±0
13	46.44±0.09	6.94±0.04	14.85±0.01	64.97±0.13	16.39±0
14	43.46±0.14	7.84±0.05	15.46±0.06	63.13±0.04	17.33±0.08
15	44.11±0.11	7.48±0.06	14.77±0.02	63.15±0.13	16.56±0.05
16	44.45±0.02	7.56±0.01	15.09±0.03	63.39±0.02	16.88±0.03

Sıcak çikolata karışımlarının renk ölçümlerinde L^* değerleri 43.46 ile 47.06 arasında değişim göstermiştir. Bütün örneklerin L^* değerleri birbirine yakın olup aralarında fark düşüktür. 14. örnekte kakao tozunun içeriği diğer örneklerle göre fazla olduğundan L^* değeri diğer örneklerle göre daha düşük bulunmuş ve örneğin rengi daha koyu bulunmuştur.

Sıcak çikolata örneklerine ait a^* değerleri 6.78 ila 7.84 arasında; b^* değerleri ise 14.42 ila 15.63 arasında gözlemlenmiştir. Şeker miktarları kakao tozu miktarlarına göre fazla ve kakao-şeker oranları eşit olan örneklerin a^* değerlerinin çoğunlukla yüksek olduğu tespit edilmiştir. b^* değerlerinde de önemli bir değişim görülmeyp sarılık değerleri birbirlerine yakın bulunmuştur. Hidrolize kolajenlerin sarımsı bir renge sahip olması ve örneklerle eşit miktarlarda katılması sebebiyle b^* değerleri birbirine benzer sonuçlar elde edilmiştir. Vargas-Muñoz ve Kurozawa (2020) yaptıkları bir çalışmada hidrolize kolajen ve maltodekstrinle kaplanmış püskürterek kurutulmuş ve dondurarak kurutulmuş iki farklı kokona tozlarının L^* ve C^* değerlerinde önemli bir fark olmadığını gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte, bu tozlar, taşıyıcı maddelerin daha fazla parlaklığından dolayı, dondurularak kurutulmuş kokona posasından daha yüksek parlaklık değerleri sergilediğini belirtmişlerdir. C^* değerleri, dondurularak kurutulmuş

meyve posasına göre püskürtülerek kurutulmuş tozlardan daha düşük bir yoğunluğa işaret etmiştir (Vargas-Muñoz ve Kurozawa, 2020). Hue değerleri (ton açısı) en düşük 63.13; en yüksek 65.89 çıkmıştır. Chroma değerleri (doygunluk) ise en düşük 15.95; en yüksek 17.33 olarak bulunmuştur. Örneklerin Hue ve Chroma değerleri birbirlerine yakın değerler görülmüştür. Chroma değerlerindeki artış rengin koyulaştığı anlamına geldiğinden sıcak çikolata örneklerinin koyuluklarının yakın olduğu söylenebilir.

4.1.3. Yığın yoğunluğu ve akış özellikleri

Sıcak çikolata tozlarının yoğunluk özellikleri yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk olmak üzere 2 farklı kritere göre değerlendirilmiştir. Örneklerin yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk analiz sonuçları Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Carr indeks değerleri ise 6.62 ila 53.88 arasında; Hausner oranı ise 1.07 ila 2.17 arasında gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.3. Sıcak çikolata karışımlarının yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış, carr indeksi, hausner oranı analiz sonuçları

Deneme	Yığın yoğunluğu (g/cm ³)	Sıkıştırılmış yoğunluk (g/cm ³)	Carr indeksi (%)	Hausner oranı
1	0.7±0.04	1.03±0.03	31.3±5.37	1.46±0.11
2	0.79±0.02	1.06±0.06	25.54±2.46	1.34±0.04
3	0.66±0.01	0.93±0.02	29.52±0.48	1.42±0.01
4	0.83±0.00	1.11±0.00	25±0.00	1.33±0.00
5	0.77±0.00	1.18±0.00	34.62±0.00	1.53±0.00
6	0.76±0.04	1.11±0.00	31.86±3.86	1.47±0.08
7	0.73±0.01	1.14±0.03	36.38±0.66	1.57±0.02
8	0.76±0.04	1.15±0.1	34.07±1.93	1.52±0.04
9	0.82±0.02	1.18±0	30.58±1.42	1.44±0.03
10	0.7±0.04	1.11±0	36.67±3.33	1.58±0.08
11	0.77±0.00	1.21±0.04	36.54±1.92	1.58±0.05
12	0.82±0.02	1.06±0.06	22.33±5.67	1.29±0.09
13	0.95±0.00	1.03±0.03	7.14±2.38	1.08±0.03
14	0.89±0.02	0.95±0.00	6.62±2.08	1.07±0.02
15	0.51±0.00	1.08±0.03	52.56±1.28	2.11±0.06
16	0.51±0.01	1.12±0.06	53.88±1.38	2.17±0.07

En yüksek yığın yoğunluğu değeri (0.95 g/cm^3) yüksek miktarda şeker içeren 13 nolu denemede gözlenmiştir. Bu deneme ile aynı miktarda şeker içeren 5. ve 9 nolu denemelerde ise yığın yoğunluğunda bir miktar düşüş görülmüş olup bu düşüş karışımlarındaki ksantan zambak miktarının fazla olmasından kaynaklandığı söylenebilir. Benković ve ark. (2015), yığın yoğunluğu değerinin yüksekliğinin şeker içeriğinin fazla olmasından kaynaklandığını belirtmiştir. Ksantan zambak miktarı 0.39'dan fazla olduğunda sıkıştırılmış yoğunluk değerlerinde çok fazla düşüş görülmemiştir. Buradan ksantan zambak miktarındaki artışın sıkıştırılmış yoğunluğun düşmesini engellediği söylenebilir.

Sıcak çikolata toz karışımlarının akış özellikleri yığın ve sıkıştırılmış yoğunluklar kullanılarak Carr indeksi ve Hausner oranı belirlenmiştir. Bu özellikler ile sıcak çikolata tozlarının akışkanlığı belirlenmiştir. Carr indeks değerleri 6.62-53.88 arasında; Hausner oranı ise 1.07-2.17 arasında gözlemlenmiştir. Karışım tozlarının akışkanlıklarının Çizelge 3.3.'deki değerlendirmeye göre iyi durumundan çok kötü durumundaki sınıflandırmaya kadar birçok örnek olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum formülasyondaki karışım miktarlarından kaynaklandığı görülmektedir. Tozların daha iyi akış özelliği göstermesi için Carr indeksi veya Hausner oranının düşük olması istenmektedir (Shishir ve ark., 2014).

4.1.4. Duyusal özellikler

Sıcak çikolata örneklerine ait duyusal analizlerinde çözünür özellik, görünüş ve renk, kıvam, tat, koku ve genel beğeni parametreleri bakımından değerlendirilmiştir. Duyusal analiz sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Sıcak çikolata içeceklerinin duyusal analiz sonuçları

Deneme	Çözünür Özellikler	Görünüş ve Renk	Kıvam	Tat	Koku	Genel Beğeni
1	6.0±1.00	6.2±1.10	5.8±1.79	5.4±1.52	7.0±0.00	6.2±1.30
2	5.6±0.55	5.6±1.52	4.6±1.34	5.0±1.22	6.0±1.73	5.4±1.14
3	5.2±1.48	5.8±1.64	5.6±1.67	5.4±0.89	6.0±1.00	5.8±0.84
4	5.2±1.30	6.0±1.22	5.4±0.89	5.6±0.89	5.8±1.10	5.6±0.55
5	6.2±0.84	5.2±0.45	5.4±1.14	5.4±1.52	6.2±0.84	5.4±0.89
6	6.0±1.00	5.4±0.55	5.4±1.14	5.6±0.89	6.2±0.84	5.5±1.00
7	5.8±1.10	5.6±1.34	4.8±1.64	5.2±1.30	6.2±0.84	5.2±1.48
8	5.8±0.84	5.2±1.64	5.0±1.22	5.8±1.30	6.0±1.00	5.5±1.58
9	6.4±0.89	5.4±1.52	5.6±0.89	5.2±0.84	6.4±0.89	5.56±1.29
10	6.4±0.89	6.6±0.89	6.8±0.45	6.6±0.89	7.0±0.00	7.0±0.00
11	6.0±1.22	6.0±1.22	5.8±1.64	6.2±1.79	6.4±0.89	6.2±0.84
12	5.4±1.82	5.6±1.14	5.6±1.52	6.4±0.89	5.4±1.82	6.16±0.79
13	5.8±1.79	4.8±0.84	6.0±1.00	5.8±1.30	5.2±1.79	5.76±0.77
14	6.6±0.55	7.0±0.00	5.8±1.79	6.0±1.22	7.0±0.00	6.8±0.45
15	5.6±1.14	6.2±0.84	5.8±1.10	6.2±0.84	5.6±1.34	5.8±1.30
16	5.6±1.34	5.8±0.84	5.6±0.89	6.2±0.45	5.8±1.30	5.8±0.84

4.1.4.1. Çözünür özellikler

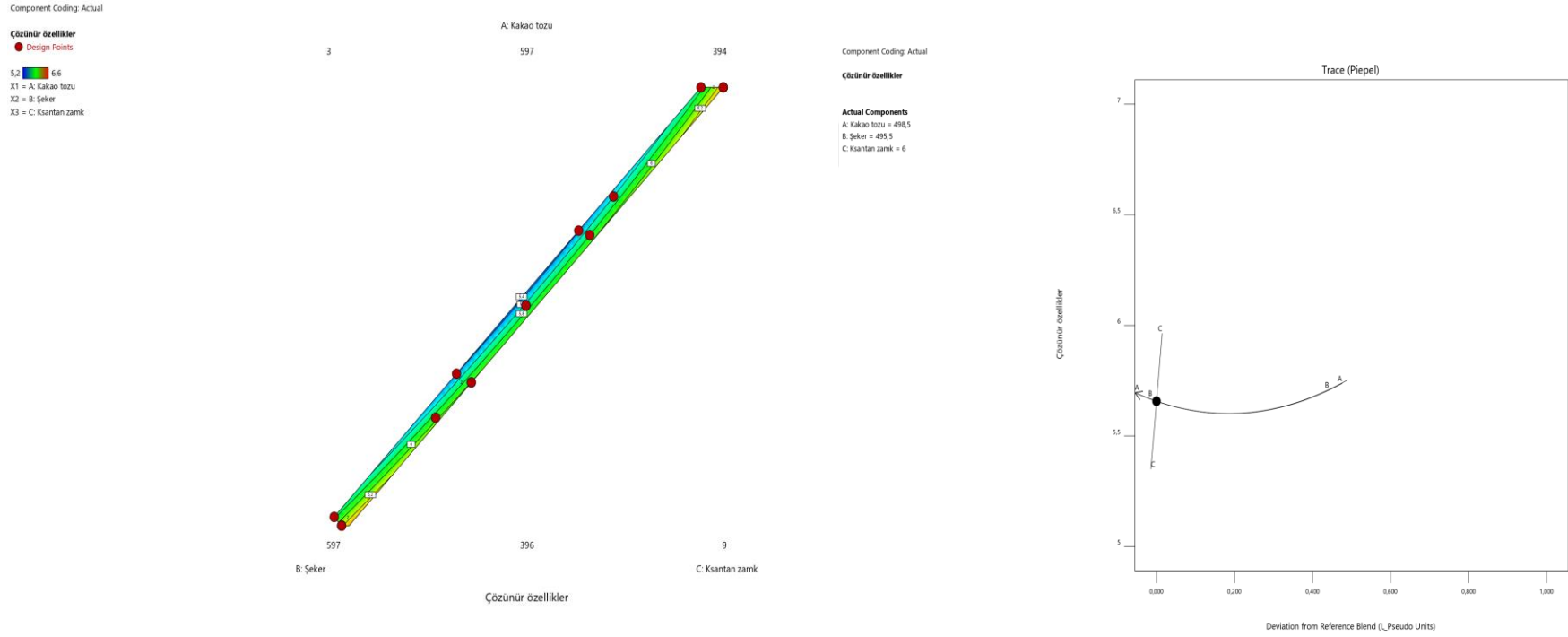
Çizelge 4.4'te görüldüğü üzere sıcak çikolata örneklerinin duyusal çözünürlük puanı 5.2 ile 6.6 arasında değişmiştir. Karışım desenine göre yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5'te sunulmuştur. Varyans analiz sonuçlarına göre sıcak çikolata karışımlarının çözünürlük özellikleri doğrusal terimler ve kakao × şeker interaksiyonunda önemli ($p<0.05$) düzeyde etkilenmiştir.

Çizelge 4.5. Sıcak çikolata içeceklerinin çözünür özelliklerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri
Model	0.4669	4.67	0.0219*
Doğrusal terimler	0.4631	4.63	0.0323*
Kakao × Şeker	0.4747	4.75	0.0499*
Uyum eksikliği	0.1475	4.43	0.0604
R ²	0.5388		
Değişim katsayısı (CV)	5.4		
Yeterli kesinlik (Adeq Precision)	6.1268		

Şekil 4.1’de çözünür özelliklerin formülasyona göre değişimi gösterilmiştir. Buna göre karışımın içerisindeki kakao tozu ve şeker miktarı azaldıkça çözünür özelliklerin belirli bir seviyeye kadar azaldığı ancak bu seviyenin üzerinde yeniden artışa geçtiği görülmektedir. Karışımın çözünürlük özellikleri ksantan zatk miktarı arttıkça keskin şekilde iyileşmiştir. Bu durumun ksantan zatkın akış özelliklerini iyileştirmekten ve topaklanmayı önlemekten kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir.





Şekil 4.1. Çözünür sıcak çikolata formülasyonunun çözünür özellikler üzerine etkisini gösteren kontur ve iz eğim grafikleri

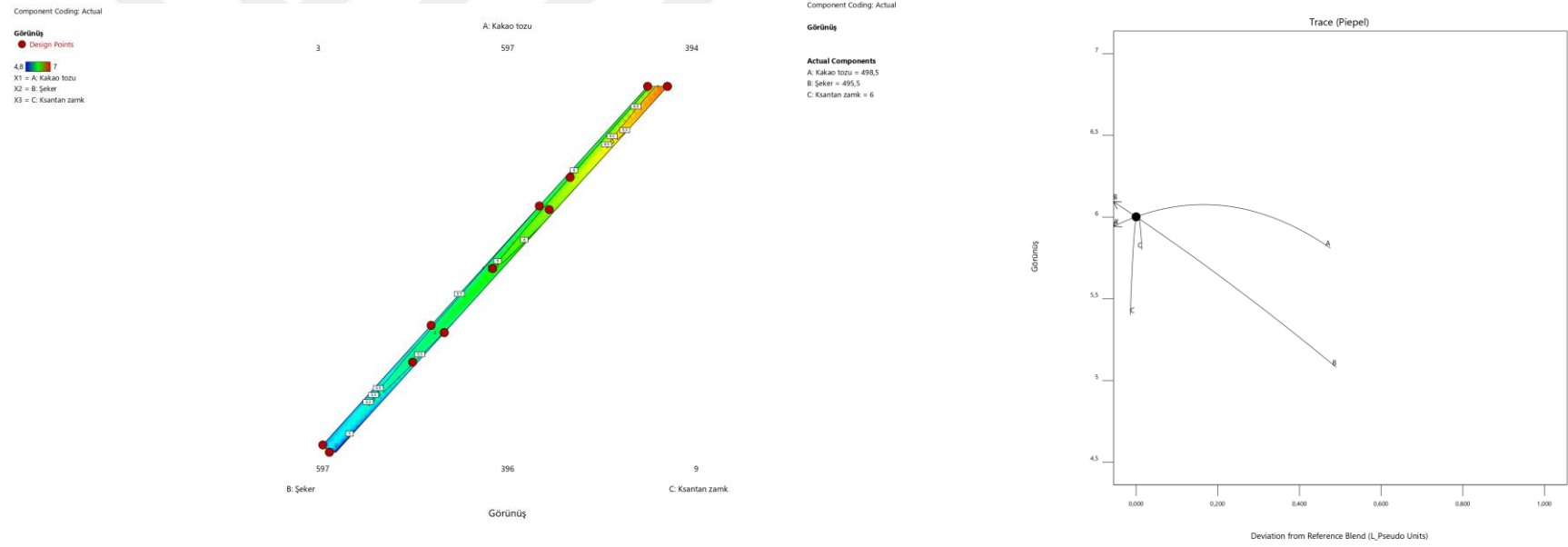
4.1.4.2. Görünüş ve renk

Sıcak çikolata örneklerinin görünüş ve renk puanı en düşük 4.8, en yüksek 7.0 olarak belirtilmiştir (Çizelge 4.4). Karışım desenine göre yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.6’da sunulmuştur. Varyans analiz sonuçlarına göre sıcak çikolata karışımlarının görünüş ve renk özellikleri doğrusal terimler, kakao × şeker ve şeker × ksantan zatkı etkileşiminde önemli ($p < 0.05$) düzeyde etkilenmiştir.

Çizelge 4.6. Sıcak çikolata içeceklerinin görünüş ve renk özelliklerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri
Model	0.9553	12.99	0.0004*
Doğrusal terimler	1.58	21.51	0.0002*
Kakao × Şeker	0.4596	6.25	0.0295*
Şeker × Ksantan zatkı	0.4453	6.06	0.0316*
Uyum eksikliği	0.1015	2.54	0.1630
R ²	0.8253		
Değişim katsayısı (CV)	4.70		
Yeterli kesinlik (Adeq Precision)	11.06		

Kakao miktarının belirli bir orana kadar artmasıyla sıcak çikolatanın görünüş özelliklerinin iyileştirdiği, daha yüksek kullanımlarda ise ürünün görünüşünü olumsuz etkilediği görülmüştür (Şekil 4.2). Sıcak çikolatadan beklenen görünüşün ve rengin koyulaşması kakao kullanımı ile sağlanmıştır ve bu durum beğeniyi arttırmıştır. Kakao miktarının belli bir seviyeden sonra artması ise rengin çok koyu olması sebebiyle olumsuzluğa sebep olmuştur. Karışımın içerisindeki şeker miktarının artışı doğrudan kakao miktarının azaltılması anlamına geldiğinden görünüş puanını düşürmüştür. Karışımlardaki şeker miktarı arttıkça şekerin beyaz rengi rengin açılmasına ve karışımın görünüşüne olumsuz etki sağlamıştır. Ksantan zatkı kıvam üzerine etkili olması nedeniyle görünüş üzerine oldukça etkili bulunmuştur. Ksantan zatkı miktarının belirli bir seviyeye kadar artışı görünüş puanını önemli şekilde artırmıştır. Bu seviyenin üzerinde ise muhtemelen viskoziteyi aşırı artırarak olumsuz etki göstermiştir.



Şekil 4.2. Çözünür sıcak çikolata formülasyonunun görünüş ve renk özellikleri üzerine etkisini gösteren kontur ve iz eğim grafikleri

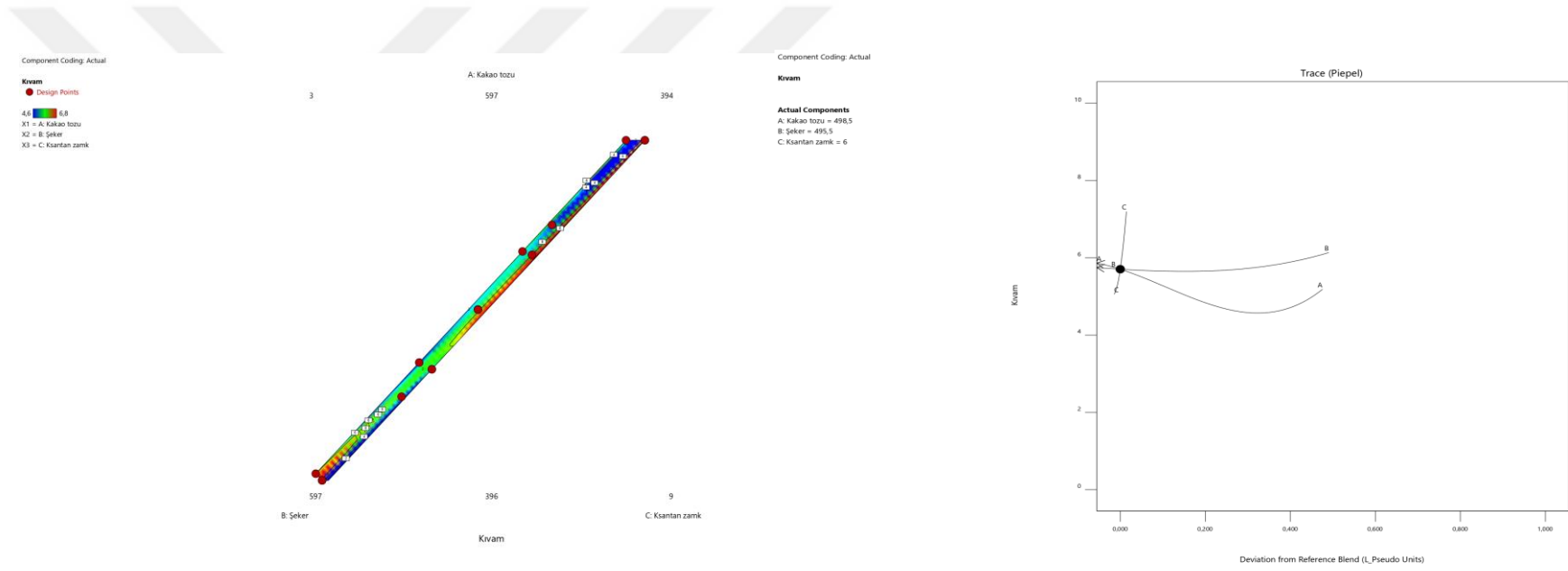
4.1.4.3. Kıvam

Çizelge 4.4'te belirtildiği üzere sıcak çikolatanın kıvam puanı 4.6 ile 6.8 arasında değişmiştir. Çizelge 4.7'de verilen varyans analiz tablosuna göre sıcak çikolata içeceklerinin kıvam özelliği kakao tozu $\times$ şeker $\times$ ksantan zamk dışındaki tüm varyasyon kaynaklarından önemli ($p < 0.05$) düzeyde etkilenmiştir.

Çizelge 4.7. Sıcak çikolata içeceklerinin kıvam özelliklerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri
Model	0.4013	4.34	0.0342
Doğrusal terimler	0.3010	3.26	0.1001
Kakao tozu $\times$ şeker	0.4053	4.38	0.0746
Kakao tozu $\times$ ksantan zamk	1.28	13.80	0.0075
Şeker $\times$ ksantan zamk	0.8323	9.00	0.0199
Kakao tozu $\times$ şeker $\times$ (kakao tozu - şeker)	0.6810	7.37	0.0300
Kakao tozu $\times$ ksantan zamk $\times$ (kakao tozu - ksantan zamk)	1.21	13.07	0.0086
Şeker $\times$ ksantan zamk $\times$ (şeker - ksantan zamk)	1.18	12.72	0.0091
Uyum eksikliği	0.0103	0.0823	0.9223
R ²	0.8322		
Değişim katsayısı (CV)	5.47		
Yeterli kesinlik (Adeq Precision)	7.15		

Beklenildiği üzere sıcak çikolata karışımının kıvamı üzerine en etkili ingredient ksantan zamk olarak belirlenmiştir. Şekil 4.3'te görüldüğü üzere ksantan zamk konsantrasyonunun deneme aralığında artışı duyusal kıvam puanında doğrusal bir artışa neden olmuştur. Şeker konsantrasyonu ise daha az olsa da kıvam puanı üzerine etkili bulunmuştur. Şeker, kakao tozuna göre daha fazla su tutma yeteneğine sahiptir. Şekerlerin nem tutma özellikleri karbonhidratların hidrofilik yapısından kaynaklanır (Doğan ve Küçüköner, 2003). Bu nedenle karışımda şeker konsantrasyonunun artması kıvam üzerine olumlu etki de bulunmuştur.



Şekil 4.3. Çözünür sıcak çikolata formülasyonunun kıvam üzerine etkisini gösteren kontur ve iz eğim grafikleri

4.1.4.4. Tat

Farklı konsantrasyonlarda ingrediyeñter ile hazırlanan sıcak çikolata içeceklerinin tat puanı 5.0 ile 6.6 arasında değışim göstermiştir (Çizelge 4.4). Çizelge 4.8’de verilen varyans analiz tablosuna göre sıcak çikolata içeceklerinin tat özelliğı kakao tozu × şeker dışındaki tüm varyasyon kaynaklarından önemli ($p<0.05$) düzeyde etkilenmiştir.

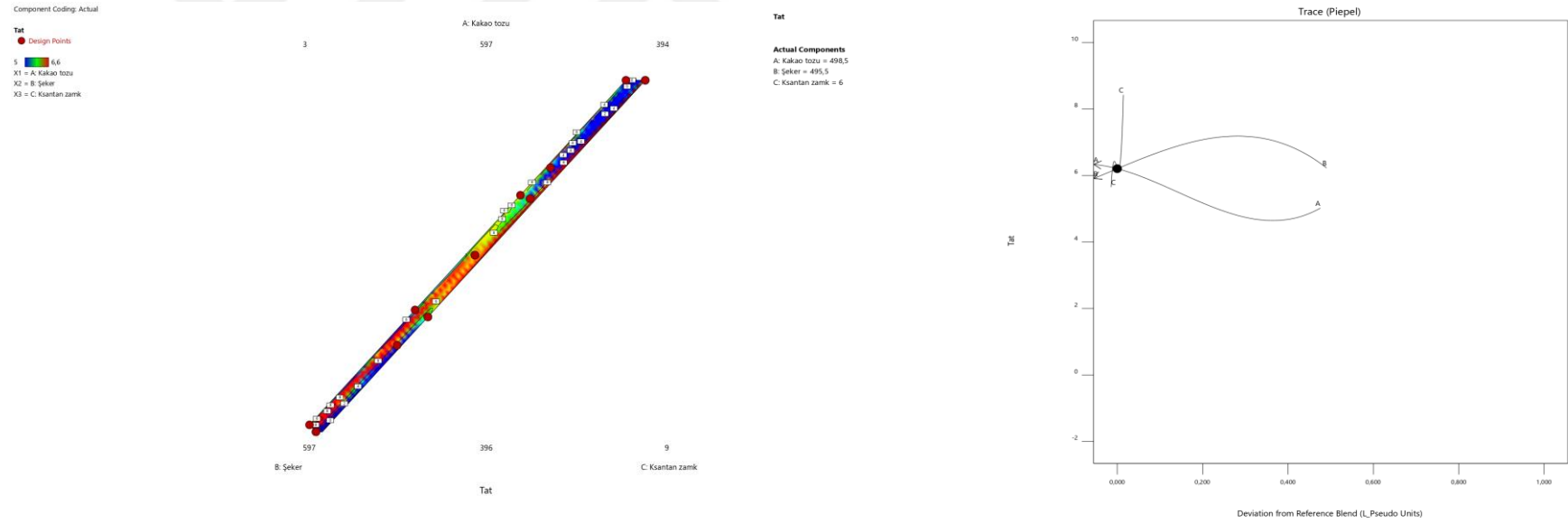
Çizelge 4.8. Sıcak çikolata içeceklerinin tat özelliklerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri
Model	0.3777	6.98	0.0094
Doğrusal terimler	0.3014	5.57	0.0356
Kakao tozu × ksantan zamk	0.6539	12.09	0.0103
Şeker × ksantan zamk	0.6814	12.60	0.0093
Kakao tozu × şeker × ksantan zamk	0.6640	12.28	0.0099
Kakao tozu × şeker × (kakao tozu – şeker)	0.9426	17.43	0.0042
Kakao tozu × ksantan zamk × (kakao tozu – ksantan zamk)	0.6202	11.47	0.0117
Şeker × ksantan zamk × (şeker – ksantan zamk)	0.7045	13.03	0.0086
Uyum eksikliği	0.0793	1.80	0.2576
R ²	0.8887		
Değışim katsayısı (CV)	4.04		
Yeterli kesinlik (Adeq Precision)	7.08		

Sıcak çikolata içeceklerinin tadı üzerine tüm ingrediyeñter önemli etki göstermiştir. Şekil 4.4’te görüldüğü üzere ksantan zamk konsantrasyonunun artışı tat üzerine en yüksek etkiyi göstermiştir. Genel olarak ksantan zamk konsantrasyonunun artmasının tadı olumlu etkilediğı söylenebilir. Bu durumun viskozitenin artmasına bağılı olarak uçucu bileşenlerin sıvı içecek içerisinde daha fazla tutulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kakao tozu sıcak çikolata içeceklerinde beklenen tadın oluşumu için en önemli ingrediyeñttir. Bu nedenle kakao tozu konsantrasyonunun düşük olması tadı olumsuz etkilemiştir. Konsantrasyon artışı tat puanını olumlu etkilemiş ancak belli bir konsantrasyonun üzerinde kakao tozu kullanımı, tat puanının düşmesine neden olmuştur. Kakao tozu yüksek fenolik ve kafein içeriğine sahiptir. Bu nedenle kakao tozunun aşırı kullanımını buruk ve acı bir tada neden olduğu düşünülmektedir. Tam aksi bir durum

şeker için gözlenmiştir. Nitekim ideal seviyenin altında ve üstünde şeker kullanımı tat puanının düşmesine neden olmuştur. Bu sonucun ideal seviyenin altında şeker kullanımının fazla miktarda kakao kullanılmasını gerektirmesinden, ideal seviyenin üstünde ise karışımın aşırı tatlı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.





Şekil 4.4. Çözünür sıcak çikolata formülasyonunun tat üzerine etkisini gösteren kontur ve iz eğim grafikleri

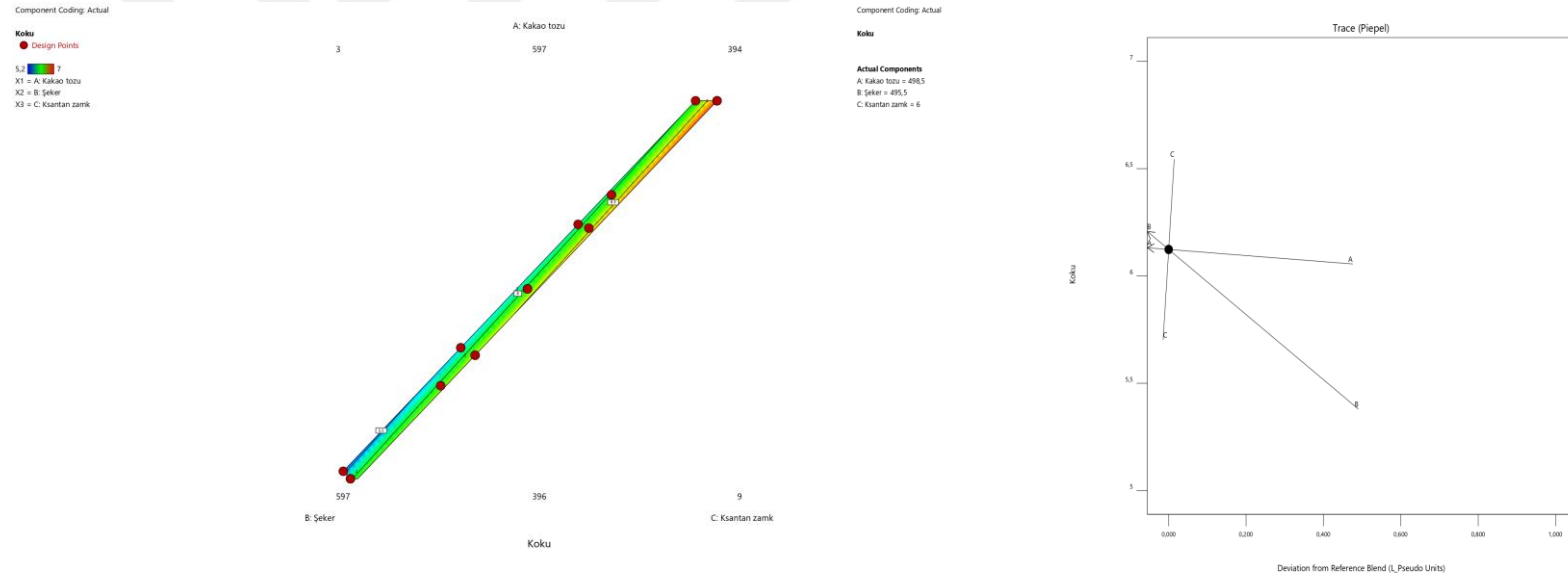
4.1.4.5. Koku

Çizelge 4.4'te görüldüğü üzere formülasyona bağlı olarak sıcak çikolata örneklerinin koku puanı 5.2 ile 7.0 arasında değişmiştir. Sıcak çikolata içeceklerinin koku özelliği varyans analiz sonuçlarına göre yalnızca doğrusal terimlerden etkilenmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Sıcak çikolata içeceklerinin görünüş ve renk özelliklerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri
Model	1.23	8.28	0.0048
Doğrusal terimler	1.23	8.28	0.0048
Uyum eksikliği	0.1923	2.49	0.1652
R ²	0.5602		
Değişim katsayısı (CV)	6.27		
Yeterli kesinlik (Adeq Precision)	9.1142		

Sıcak çikolata içeceklerinin koku puanı üzerine olumlu etkili faktör ksantan zatkı olmuştur (Şekil 4.5). Kıvamın artması uçucu özellikte olan kakao aromatik bileşenlerin sıvı içerisinde daha iyi tutulmasını sağlamıştır. Kakao tozu konsantrasyonu sıcak çikolata içeceklerinin kokusu üzerine oldukça az etki göstermiştir. Bu durumun deneme deseni aralığında kullanılan en düşük konsantrasyonun bile duyuşsal koku doygunluğu için yeterli olduğunu düşündürmüştür. Şeker konsantrasyonunun artması ile koku puanını doğrusal olarak azaltmıştır. Bu durumun şekerden kaynaklanan aromatik bileşenlerin kakao kaynaklı bileşenleri baskılaması nedeniyle gerçekleştiği düşünülmektedir.



Şekil 4.5. Çözünür sıcak çikolata formülasyonunun koku üzerine etkisini gösteren kontur ve iz eğim grafikleri

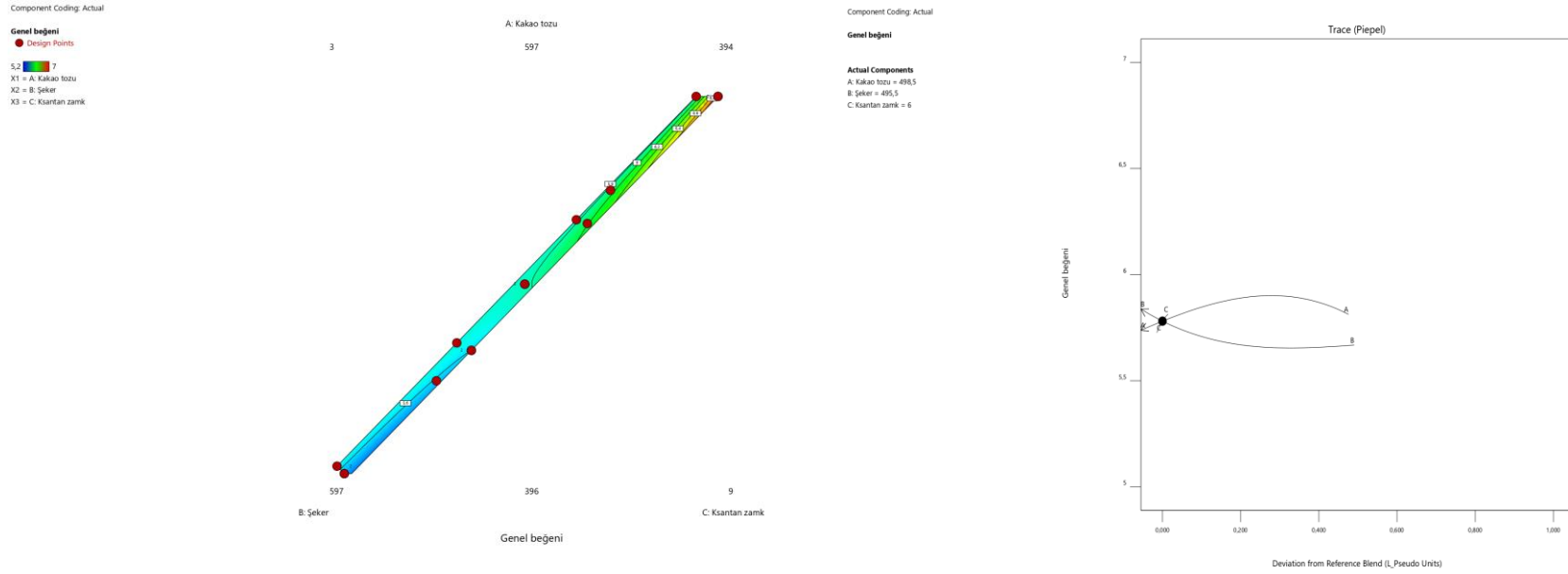
4.1.4.6. Genel beğeni

Çizelge 4.4'te belirtildiği üzere sıcak çikolata örneklerinin genel beğeni puanı en düşük 5.2 ve en yüksek 7.0 olarak tespit edilmiştir. Bu nedenle konsantrasyondan bağımsız olarak tüm denemelerin ortalamasının üzerinde beğeni sağladığı görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre sıcak çikolata içeceklerinin genel beğenisi doğrusal terimler ve kakao tozu $\times$ ksantan zamk $\times$ (kakao tozu - ksantan zamk) interaksyonuna bağlı olarak değişim göstermiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Sıcak çikolata içeceklerinin genel beğeni parametrelerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri
Model	0.9223	10.71	0.0010
Doğrusal terimler	0.9274	10.77	0.0021
Kakao tozu $\times$ ksantan zamk $\times$ (kakao tozu - ksantan zamk)	0.9119	10.59	0.0069
Uyum eksikliği	0.1277	4.58	0.0565
R ²	0.7280		
Değişim katsayısı (CV)	5.01		
Yeterli kesinlik (Adeq Precision)	9.53		

Sıcak çikolata örneklerinin genel beğeni puanı üzerine kakao tozu oldukça etkili olmuştur (Şekil 4.6). Buna göre kakao tozunun belirli bir konsantrasyona kadar artışı genel beğeni puanını olumlu etkilemiş, bu konsantrasyon üzerinde ise bir miktar azalışa neden olmuştur. Bu sonucun yüksek konsantrasyonda tadın kötüleşmesi ve kıvamın azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Şeker konsantrasyonunun artışı ise deneme deseninin orta noktasına kadar genel puanının azalmasına neden olmuş ancak daha yüksek konsantrasyonda etki göstermemiştir. Ksantan zamk genel beğeni puanı üzerine minimum etki göstermiştir.



Şekil 4.6. Çözünür sıcak çikolata formülasyonunun genel beğeni üzerine etkisini gösteren kontur ve iz eğim grafikleri

4.1.5. Optimizasyon ve doğrulama

Optimizasyon işlemi duyusal özelliklerin tamamını eş zamanlı olarak maksimize eden formülasyonun istenirlik fonksiyonuna göre hesaplanması ile gerçekleştirilmiştir. Bu hesaplamalara göre en uygun formülasyon %59.4 kakao, %36.7 şeker, %0.9 ksantan zamktır. Bu formülasyona göre 3 tekerrürlü olarak üretim gerçekleştirilmiş ve tekrar duyusal analiz yapılarak sonuçlar doğrulanmaya çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.11’de verilmiştir. Sonuçlar optimizasyon hesaplamaları sonucu elde edilen değerler ile deneysel değerler arasında yüksek bir uyum olduğunu göstermiştir. Çizelgede görüldüğü üzere optimum formülasyon çözünür özellikler dışında (6.10) tüm duyusal değerlendirmelerden 6.60 üzerinde puan alarak çok beğenilmiştir.

Çizelge 4.11. Sıcak çikolata karışımlarının duyusal analiz sonuçları

Parametre	Hesaplanan Değer	Deneysel Değer
Çözünür özellikler	6.34	6.10±0.74
Görünüş	6.71	6.70±0.42
Kıvam	6.50	6.75±0.35
Tat	6.60	6.60±0.46
Koku	6.87	6.65±0.63
Genel Beğeni	6.87	6.63±0.46
İstenirlik	0.905	

4.2. Kolajenli Kahve

4.2.1. Nem miktarı, su aktivitesi ve higroskopisite

En yaygın ürünlerden biri olan kahve, her gün milyonlarca insan tarafından tüketilmesi nedeniyle fonksiyonelleştirme açısından önemlidir. Çizelge 4.12’de kolajenli kahve karışımlarının nem miktarı, su aktivitesi ve higroskopisite analiz sonuçları verilmiştir. Kolajenli kahve karışım örneklerinin nem içerikleri %3.91-4.77 arasında değişim göstermiştir. Formülasyonda kahve miktarının artması veya kolajen içeriğinin düşmesi ile nem miktarı azalmıştır.

Çizelge 4.12. Kahve karışımlarının nem, su aktivitesi ve higroskopisite analiz sonuçları

Deneme	Nem miktarı (%)	Su aktivitesi (a_w)	Higroskopisite (%)
1	4.77±0.20a	0.041±0.001a	29.98±0.135a
2	4.36±0.08ba	0.024±0.000b	30.31±0.090a
3	4.20±0.10b	0.020±0.001c	29.94±0.182a
4	3.91±0.09b	0.023±0.001b	29.50±0.384a

Kahve örneklerinin su aktivitesi değerleri (a_w) 0.020 ila 0.041 arasında değişim göstermiştir. Kolajen miktarı, toplam örnek miktarına göre %76.92 kolajen içeriğine sahip 1. deneme en yüksek su aktivitesi değerine sahip olmuştur ($p<0.05$). 2. ve 4. örneklerde su aktivitesi değerleri (a_w) birbirine yakın bulunurken 3. örneğin su aktivitesi değeri düşük çıkmıştır. Sousa ve ark. (2017) yaptığı bir çalışmada sosislerde kullanılan hidrolize kolajenlerin %75 oranında kullanılmasında su aktivitesi değerinde bir değişiklik görülmemiştir.

Higroskopisite değerleri en düşük %29.5; en yüksek %30.31 çıkmıştır. Bu nedenle kahve karışımlarının sıcak çikolata örneklerine göre daha yüksek higroskopisiteye sahip olduğu söylenebilir. Bu durum kahve tozunun, kakao tozuna göre daha fazla miktarda hidrofilik bileşen içerdiğini düşündürmüştür. Kahve karışımlarının higroskopisite değerleri arasında formülasyona bağlı olarak istatistiksel açıdan önemli bir fark gözlenmemiştir ($p<0.05$).

4.2.2. Renk

Analiz kapsamında elde edilen kolajenli kahve tozlarının renk parametreleri Çizelge 4.13'te verilmiştir. L^* , a^* , b^* , h^0 ve C^* renk parametrelerinde düzenli artış ve azalışlar tespit edilmiştir.

Çizelge 4.13. Kahve karışımlarının renk analiz sonuçları

Deneme	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
1	61.33±0.04a	3.9±0.09d	24.98±0.35c	81.13±0.09a	25.28±0.36c
2	57.67±0.03b	5.07±0.03c	26.51±0.12b	79.18±0.02b	26.99±0.12b
3	55.22±0.25c	5.92±0.11b	27.66±0.17ba	77.93±0.14c	28.28±0.19ba
4	52.78±0.14d	6.66±0.04a	28.7±0.55a	76.91±0.18d	29.46±0.55a

Örneklerin renk ölçümlerinde L^* değerleri 52.78 ile 61.33 arasında değiştiği görülmektedir. Beklenildiği üzere örneklerin içerisindeki kolajen konsantrasyonunun kademeli olarak azalması ve kahve miktarının da kademeli artmasına bağlı olarak bu sonuç görülmüştür.

Çizelge 4.13'te görüldüğü üzere kolajen içeriği daha yüksek olan 1 nolu denemenin hem a^* (3.90) hem de b^* (24.98) değerleri diğer örneklerden daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Kolajen peptit tozu beyaz-sarımsı bir renge sahip olduğundan kolajen peptitlerin örnek içerisinde azalması ve kahve oranlarının artması ile a^* değerlerinde kademeli bir şekilde artış görülmektedir ($p<0.05$). b^* değerleri de aynı şekilde giderek artmıştır (24.98'den 28.70'e) ($p<0.05$). Borges ve ark. (2016) yaptıkları bir çalışmada %0, 10 ve 20 oranında hidrolize kolajen içeren ağızda parçalanmış filmlerin renk parametreleri (L^* , a^* ve b^*) incelemiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre hidrolize kolajen içeren örneklerin renk değerleri kontrol örneğine kıyasla yüksek çıkmıştır. Fakat katkılama oranına bağlı olarak örneklerin renkleri arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir.

Hue (ton açısı) değerleri en düşük 76.91, en yüksek 81.13 çıkmıştır ($p<0.05$). h^0 değerlerinin örneklerde giderek azaldığı görülmektedir. Örneklerin a^* değerleri b^* değerlerine göre daha yüksek oranda artmasından dolayı ton açısı değerleri giderek düşmüştür.

Chroma değerleri ise en düşük 25.28, en yüksek 29.46 çıkmıştır. C^* değerleri a^* değerleri ve b^* değerleri giderek arttığı için artmıştır. Chroma değerlerinin artması örneklerin renk doygunluğunun da arttığını göstermektedir.

4.2.3. Yığın yoğunluğu ve akış özellikleri

Kahve tozu karışımlarının yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yoğunluk, Carr indeksi ve Hausner oranı sonuçları Çizelge 4.14'te verilmiştir. Yığın yoğunluğu değerleri açısından örnekler arasında önemli bir fark görülmemiştir. Sıkıştırılmış yoğunluk değerleri 1.27 ile 1.57 g/cm³ arasında önemli farklılıklar göstermiştir. Kahve örneklerindeki kolajen ve β -glukan oranı azaldıkça sıkıştırılmış yoğunlukları artmıştır.

Çizelge 4.14. Kahve karışımlarının yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yoğunluk, Carr indeksi ve Hausner oranı analiz sonuçları

Deneme	Yığın yoğunluğu (g/cm ³)	Sıkıştırılmış yoğunluk (g/cm ³)	Carr indeksi	Hausner oranı
1	0.99±0.04a	1.27±0.02b	22.16±1.65a	1.29±0.03a
2	1.03±0.03a	1.33±0.00b	23.03±1.97a	1.30±0.03a
3	1.08±0.03a	1.48±0.06a	26.90±4.68a	1.37±0.09a
4	1.05±0.00a	1.57±0.03a	32.89±1.32a	1.49±0.03a

Carr indeksi toz ürünlerin akışkanlığı, Hausner oranı ise toz ürünün yapışkanlığını ifade etmektedir. (Chen ve ark., 2021). Carr indekse dayalı toz akışkanlıkları 1. ve 2. örneklerin carr indeksi 21-25 aralığında olduğu için “geçerli”, 3. örneğin carr indeksi 26-31 aralığında olduğu için “zayıf”, 4. örneğin Carr indeksi ise 32-37 aralığında değerlendirildiği için “çok zayıf” olarak belirlenmiştir. Bu nedenle karışımda kahve oranının artması akış özelliğini kötüleştirmiştir.

Kahve karışımlarının Hausner oranı 1.29-1.49 arasında değişim göstermiştir. Örnekler arasında Hausner oranı değerlerinde önemli bir fark gözlenmemiştir. Çizelge 3.3'te yer alan sınıflandırmaya göre en yüksek Hausner oranı kolajen oranı en düşük olan kahve karışımına aittir. Karışımın içerisindeki kahve miktarı arttıkça akışkanlığın azaldığı gözlemlenmiştir. 1. ve 2. Örnek karışımlar 1.26-1.34 aralığında olduğu için geçerli akışkanlık olarak değerlendirilir. 3. Örnek ise, 1.35 ile 1.45 aralığında olduğu için zayıf akışkan olarak sınıflandırılır. En yüksek oranda kahve içeren örneğe ait Hausner oranı ise 1.46-1.59 arasında olup çok zayıf akışkanlık (yüksek yapışkanlık) özelliği göstermektedir.

4.2.4. Duyusal özellikler

Kahve örneklerinin duyusal analiz sonuçları Çizelge 4.15'te belirtilmiştir.

Çizelge 4.15. Kahve karışımlarının duyusal analiz sonuçları

Deneme	Çözünür Özellikler	Görünüş ve Renk	Kıvam	Tat	Koku	Genel Beğeni
1	7.0±0.0a	2.8±0.84c	3.8±1.30c	2.6±0.55c	3.8±1.10b	3.0±0.71c
2	7.0±0.0a	4.6±0.55b	4.6±1.67cb	3.8±1.10b	5.0±1.58ba	4.6±0.55b
3	7.0±0.0a	5.8±0.84a	5.8±0.84ba	5.6±1.14a	5.6±0.89ba	6.0±0.71a
4	6.6±0.89b	6.4±0.89a	6.8±0.45a	6.2±0.84a	6.2±1.10a	6.4±0.89a

Duyusal analiz sonuçlarına göre kahve karışımlarının çözünür özellikler bakımından ilk 3 örneğin çözünürlüğü ‘çok iyi’ iken, 4. Örnek ise diğer üç örneklere göre biraz daha düşük değerlendirilmiştir ($p<0.05$). Kahve miktarının en yüksek olduğu denemede çözünür özellikler bir miktar azalmıştır. Kahve örneklerinin görünüş ve renk özellikleri bakımından 3. ve 4. örnekler birbirine yakın puanlarda değerlendirilirken, kolajen ve β -glukan oranının yüksek olduğu 1. ve 2. örneklerde düşük puanlarla değerlendirilmiştir ($p<0.05$). Örneklerde kahve miktarının artmasıyla karışımın koyulaşması, kolajen oranındaki azalışla sarılığın azalması sebebiyle görünüş ve renk özelliklerinin iyileştiği değerlendirilmiştir. Kahve karışımlarının kıvam özelliğinde de benzer bir eğilim tespit edilmiştir. Kahve miktarının artmasıyla karışımın kıvamının arttığı görülmektedir. Kolajen ve β -glukan oranlarının çok olduğu 1. örnekte kıvamın düşük olduğu belirtilmiştir. Koku özellikleri bakımından kahve miktarı en yüksek olan 4. Örnekte yüksek, kahve miktarının düşük olduğu 1. Örnekte düşük değerlendirilmiştir. Karışımın içerisindeki kahvenin baskın kokusu kahve miktarının artmasıyla kokuya daha çok etki ettiği görülmüştür.

Kahve karışımları arasında kolajen ve β -glukan oranı en yüksek olan 1. örnek görünüş ve renk, kıvam, tat, koku ve genel beğeni açısından en düşük puanları almıştır. Kahve oranının artırılması ile duyusal analiz sonuçlarında artışlar görülmüştür. 1. ve 2. örneklerin kolajen oranı yüksek; kahve miktarlarının az olması sebebiyle genel beğeni olarak düşük değerlendirilmiştir. 3. ve 4. örnekler ise tat ve genel beğeni olarak yüksek puan göstermiştir. Bu beğeni seviyesinin yüksek olması kahve içeriklerinin diğer örneklere göre nispeten daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Tez çalışması kapsamında dünyada ve ülkemizde benzeri ticari olarak pazara sunulan ancak bilimsel olarak üzerine çalışma yapılmamış kolajen içeren toz içecek karışımları çalışılmıştır. Bu amaçla en uygun kolajen içeren sıcak çikolata formülasyonu karışım desenine göre ve kahve formülasyonu ise faktöriyel deneme desenine göre belirlenmiştir. Tez çalışmasından elde edilen bulgular ve sonraki çalışmalara örnek olacak bazı öneriler aşağıda verilmiştir;

- Sıcak çikolata karışımlarının nem içeriği %1.66 ile 3.42 arasında, su aktivitesi ise 1.186 ile 0.229 arasında değişim göstermiştir. Kahve örneklerinin nem miktarı ve su aktivitesi ise sırasıyla 3.91-4.77 ve 0.020-0.041 olarak belirlenmiştir. Su aktivitesi değerlerinin 0.3'ün altında olması nedeniyle karışımların mikrobiyolojik olarak stabil olduğu tespit edilmiştir.
- Sıcak çikolata karışımlarının higroskopisite değerleri %20 civarında, kahve karışımlarınıninki ise yaklaşık %30 olarak tespit edilmiştir. Genel olarak her iki ürününde higroskopik olduğu ve bu nedenle paketleme sırasında neme karşı gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir.
- Renk analizi sonuçlarına göre sıcak çikolatada renk parametrelerinde önemli bir değişiklik görülmemiştir. Kahve değerlerinde ise kahve miktarın da artması sonucu L^* (parlaklık) ve ton açısı değerlerinde azalma olduğu; a^* , b^* ve doygunluk değerlerinde artış olduğu gözlenmiştir.
- Karışımlara ait yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk değerlerine bağlı olarak hesaplanan akışkanlık özelliklerine göre sıcak çikolata örneklerinin iyi ile çok kötü arasında akışkanlık özelliğine sahip olduğu, kahve örneklerinin ise geçerli ile çok zayıf arasında akışkanlık özelliği gösterdiği tespit edilmiştir.
- Duyusal analiz sonuçlarına göre sıcak çikolata örneklerinin çözünür özellikleri özellikle ksantan zatkı artışı ile iyileşirken, kahve karışımlarında en yüksek kahve oranında bir miktar azalmıştır.

- Görünüş ve renk özellikleri bakımından sıcak çikolata kakao ve ksantan zamk miktarlarının belirli bir orana kadar artmasıyla sıcak çikolatanın görünüş ve rengini iyileştirdiği belirlenmiştir. Şeker miktarının artması sıcak çikolatanın renk ve görünüş özelliğini olumsuz etkilemiştir. Kahve karışımlarında kahve miktarının artmasıyla karışımın renk ve görünüşünü iyileştirdiği görülmüştür.
- Sıcak çikolata karışımında ksantan zamkın miktarı arttıkça karışımın kıvamı iyileşmiştir. Kahve örneklerinde ise kahve miktarı arttıkça karışımın kıvamı daha yüksek puan almıştır.
- Sıcak çikolatada kakao tozunun miktarı belli bir konsantrasyonun üzerinde kullanılması tadı olumsuz etkilemiştir. Öte yandan ksantan zamk konsantrasyonunun artışı, karışımın tadını olumlu yönde etkilemiştir. Kahve karışımında kahve miktarının artışıyla tat iyileşmiştir.
- Sıcak çikolata karışımlarında ksantan zamk konsantrasyonu artışı ve şeker konsantrasyonunun azalması koku üzerinde olumlu etki göstermiştir. Kahve karışımlarında kahve miktarının artması, kolajen ve β -glukan oranlarının azalmasıyla kokunun iyileştiği belirlenmiştir.
- Sıcak çikolata örneklerindeki kakao tozunun belirli bir konsantrasyona kadar artışı genel beğeni puanını olumlu etkilemiş, bu konsantrasyon üzerinde ise bir miktar azalışa neden olmuştur. Şeker konsantrasyonunun artışı ise deneme deseninin orta noktasına kadar genel puanının azalmasına neden olmuş ancak daha yüksek konsantrasyonda etki göstermemiştir. Kahve karışımlarında ise kahve miktarının artması, genel beğeniye arttırmıştır.
- Optimizasyon çalışmaları belirlenen formülasyon sıcak çikolata için %59.4 kakao, %36.7 şeker, %0.9 ksantan zamktır. Bu formülasyon bir serviste (30 g) 10 g kolajen ve 0,5 g β -glukan içermektedir. Kahve için belirlenen en uygun formülasyon ise 2 g çözünebilir kahve, 2.5 g hidrolize kolajen peptit ve 0.25 g β -glukan'dır.

5.2 Öneriler

Hidrolize kolajen peptitler son yılların en önemli takviye edici gıdalarından birisidir. Diğer takviye edici gıdalara kıyasla günlük tüketim miktarı daha fazla olması nedeniyle genellikle toz ya da sıvı formda pazarlanmaktadır. Bu durum, tüketicilerin

zamanla tüketimini zorlaştırmakta ve kullanımdan vazgeçmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle son yıllarda üreticiler hidrolize kolajen peptit içeren farklı gıdalar üretmekte ve piyasaya sürmektedir. Bilimsel literatürde kolajen hidrolizatının gıdalarda kullanımına ilişkin çok fazla veri bulunmamaktadır. Bilimsel olarak çok sınırlı sayıda çalışma bulunması genellikle albenisi düşük, tüketici tarafından beğenilmeyen ürünler piyasada baskındır. Bu nedenle üreticilere yol gösterecek bilimsel çalışmalara acilen ihtiyaç duyulmaktadır. Kolajen hidrolizatı kullanılarak yeni fonksiyonel gıdalar üretilmesi ve formülasyonların optimize edilmesi gıda sanayi açısından önemlidir. Bu alandaki çalışmalar çok yenidir ve geliştirilmesi gerekmektedir.

Ülkemiz açısından bir ilk olma özelliği taşıyan bu çalışmada sıcak çikolata ve kahve formülasyonları optimize edilmiştir. Ancak kolajen hidrolizatının farklı gıda formülasyonlarında kullanımını konu alan başka çalışmalara da ihtiyaç olduğu düşünülmektedir. Ayrıca geliştirilen formülasyonların hayvan ve insan denemelerinde kullanılarak etkinliklerinin fizyolojik olarak belirlenmesinin önemli olduğu değerlendirilmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abuine, R., Rathnayake, A. U. and Byun, H.-G. (2019). Biological activity of peptides purified from fish skin hydrolysates. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 22, 10. <https://doi.org/10.1186/s41240-019-0125-4>.
- Adam M., Spacek P., Hulejova H., Galianova A. and Blahos J., 1996. Postmenopausal osteoporosis. Treatment with calcitonin and a diet rich in cartilage proteins.
- Ahmad, T., Ismail, A., Ahmad, S. A., Khalil, K. A., Kumar, Y., Adeyemi, K. D., et al. (2017). Recent advances on the role of process variables affecting gelatin yield and characteristics with special reference to enzymatic extraction: A review. *Food Hydrocolloids*, 63, 85–96.
- Ahmed, M., Verma, A. K. and Patel, R. (2020). Collagen extraction and recent biological activities of collagen peptides derived from sea-food waste: A review. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 18, Article 100315.
- Akram, A. N., & Zhang, C. (2020). Extraction of collagen-II with pepsin and ultrasound treatment from chicken sternal cartilage; physicochemical and functional properties. *Ultrasonics sonochemistry*, 64, 105053.
- Allard R., Malak N. And Huc A., 2003. Collagen product containing collagen of marine origin with a low odor and preferably with improved mechanical properties. and its use in the form of cosmetic or pharmaceutical compositions or product. United States Patent. Patent.
- Alves, A., Marques, A., Martins, E., Silva, T., & Reis, R. L. (2017). Cosmetic potential of marine fish skin collagen. *Cosmetics*, 4, 39.
- Anonim, 2022 <https://www.peptan.com/science/> Erişim tarihi: 28 Mayıs 2022.
- Anonim. <https://shop.zdravnitza.com/en/zdravnitza-blog/healthproducts/what-is-the-difference-between-gelatine-and-collagen>. (Erişim tarihi May. 30. 2022).
- Anonim, 2020a, Kolajen tozu, <https://www.supraprotein.com/kolajen-tozu/> [Ziyaret Tarihi: 15.09.2022].
- Anonymous, 2013a, <http://www.genacolusa.com/genacol.pdf> (Erişim tarihi: 2 Şubat 2013).
- Anonim, 2012a, <http://www.peptan.com/en/peptan-forprofessionals/information-anddownloads/downloads/brochures>, [Ziyaret Tarihi: 16.11.2021].
- Anonim, 2012b, http://www.rousselot-rhc.com/downloads/cat_view/17-brochures.html [Ziyaret Tarihi: 15.11.2021].
- Anonim, 2012c, Gelatin handbook, Gelatin Manufacture Institute of America, http://www.gelatin-gmia.com/images/GMIA_Gelatin_Manual_2012.

- Astre, G., Deleruyelle, S., Dortignac, A., Bonnet, C., Valet, P., & Dray, C. 2018. Diet-induced obesity and associated disorders are prevented by natural bioactive type 1 fish collagen peptides (Naticol®) treatment. *Journal of Physiology & Biochemistry*, 74, 647–654.
- Ata. Ö. ve Tavman, Ş., (2019), Kolajen ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması. *GIDA* (2019) 44 (3): 383-395 doi:10.15237/gida.GD18112.
- Başıyigit, B. ve Çam, M., (2017), Püskürtmeli kurutucu ile nane (*Mentha piperita* ve *Mentha spicata*) esansiyel yağı mikroenkapsülasyonu. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 21(1), 24-34.
- Bayram, S.K., 2013, Kolajen hidrolizat içeren meyveli içecek üretimi, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir.
- Benković, M., Tušek, A.J., Belščak-Cvitanović, A., Lenart, A., Domian, E., Komes, D., and Bauman, I. 2015, Artificial neural network modelling of changes in physical and chemical properties of cocoa powder mixtures during agglomeration. *LWT - Food Science and Technology*, 64,1, 140-148.
- Beristain, C. I., Garcia, H. S. and Vernon-Carter, E. J., 2001, Spray-dried encapsulation of cardamom (*Elettaria cardamomum*) essential oil with mesquite (*Prosopis juliflora*) gum, *LWT-Food Science and Technology*, 34(6), 398-401.
- Betty, V., Humbert, P., Rougier, A., Colinge, A.C., Haftek, M., Lambert, C., Richard, A., Creidi, P. and Lapiere, C.M., 2001, Topically applied vitamin C enhances the mRNA level of collagens I and III, Their Processing Enzymes and Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase I in the Human Dermis, *The Society for Investigative Dermatology*.
- Bhagwat, P. K., and Dandge, P. B., 2018, Collagen and collagenolytic proteases: A review, *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 15, 43-55.
- Bilek. S. E. ve Bayram. S. K., 2015, Fruit juice drink production containing hydrolyzed collagen. *Journal of functional foods*. 14. 562-569.
- Bilgin, G., Güner, G., & Djavani, M. (1991). Amino acid composition of elastin purified from bovine and human aortas. *Medical science research*, 19(17).
- Borges, J.G., Silva, A.G., Cervi-Bitencourt, C.M., Vanin, F.M., and Carvalho, R.A. 2016. Lecithin, gelatin and hydrolyzed collagen orally disintegrating films: functional properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 907-916.
- Bourtoom, T., 2008, Edible films and coatings: characteristics and properties, *International Food Research Journal*, 15(3), 237-248.
- Brook, M. S., Scaife, P., Bass, J. J., Cegielski, J., Watanabe, S., Wilkinson, D. J., et al. (2021). A collagen hydrolysate/milk protein-blend stimulates muscle anabolism equivalently to an isoenergetic milk protein-blend containing a greater quantity of essential amino acids in older men. *Clinical Nutrition*, 40(6), 4456–4464.

- Cao, H., Zhao, Y., Zhu, Y. B., Xu, F., Yu, J. S., & Yuan, M. (2016). Antifreeze and cryoprotective activities of ice-binding collagen peptides from pig skin. *Food chemistry*, 194, 1245-1253.
- Chai, L., Zhou, J., Feng, H., Tang, C., Huang, Y., and Qian, Z. (2015). Functionalized carbon quantum dots with dopamine for tyrosinase activity monitoring and inhibitor screening: in vitro and intracellular investigation. *ACS applied materials & interfaces*, 7(42), 23564-23574.
- Chen, L., Chen, J., Ren, J. and Zhao, M., 2011, Effects of ultrasound pretreatment on the enzymatic hydrolysis of soy protein isolates and on the emulsifying properties of hydrolysates, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(6), 2600-2609.
- Chen, X., Zhou, L., Xu, H., Yamamoto, M., Shinoda, M., Tada, I., et al. 2019. The structure and properties of natural sheep casing and artificial films prepared from natural collagen with various crosslinking treatments. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 959–968. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.182>.
- Chen, J., Sun, S., Li, Y., & Liu, R. 2021. Proteolysis of tilapia skin collagen: Identification and release behavior of ACE-inhibitory peptides. *Lebensmittel Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 139, Article 110502.
- Chen, X., Wu, J. H., Li, L., & Wang, S. Y. (2017). The cryoprotective effects of antifreeze peptides from pigskin collagen on texture properties and water mobility of frozen dough subjected to freeze–thaw cycles. *European Food Research and Technology*, 243, 1149-1156.
- Cockerham, K. and Hsu, V. (2009). Collagen-based dermal fillers: Past, present, future. *Facial Plastic Surgery*, 25, 106–113.
- Culav. E. M., Clark. C. H. and Merrilees M. J., 1999, Connective Tissues: Matrix composition and its relevance to physical therapy. *Physical Therapy* 79:308- 319pp.
- Dahm, C., 2011, Alternative use of hides Literature and patent review (Final report), Meat & Livestock Australia Limited Locked Bag, 1-67.
- Damodaran, S., & Wang, S. (2017). Ice crystal growth inhibition by peptides from fish gelatin hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, 70, 46-56.
- Damodaran, S. (2007). Inhibition of ice crystal growth in ice cream mix by gelatin hydrolysate. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(26), 10918-10923.
- Daneault, A., Prawitt, J., Fabien Soul'e, V., Coxam, V. and Wittrant, Y. (2017). Biological effect of hydrolyzed collagen on bone metabolism. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(9), 1922–1937.
- Dey, P., Kadharbasha, S., Bajaj, M., Das, J., Chakraborty, T., Bhat, C., & Banerjee, P. (2021). Contribution of Quasifibrillar properties of collagen hydrolysates towards lowering of Interface tension in emulsion-based food leading to shelf-life enhancement. *Food and Bioprocess Technology*, 14, 1566-1586.

- Doğan, İ. S., ve Küçüköner, E., 2003, Yeni Ürün Geliştirmede Gıda Bileşenlerinin ve Fonksiyonlarının Rolü, Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu, 22-23 Mayıs 2003, İzmir.
- Duangmal, K., Saicheua, B. ve Sueeprasan, S., 2008, Colour evaluation of freeze-dried rosella extract as a natural food colorant in a model system of a drink, *LWT-Food Science and Technology*, 41: 1437-1445.
- Duconseille, A., Astruc T., Quintana N., Meersman F., Sante-Lhoutellier V. 2015, Gelatin Structure and Composition Linked to Hard Capsule Dissolution: A Review. *Food Hydrocolloids*. 43:360-376.
- Francis, F. (1998). Colour analysis. In "Food Analysis" SS Nielsen. In: Aspen Publishers Gaithersburg, USA.
- Fu, Y., Therkildsen, M., Aluko, R. E., and Lametsch, R. (2019). Exploration of collagen recovered from animal by-products as a precursor of bioactive peptides: Successes and challenges. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(13), 2011–2027.
- Ganceviciene, R., Liakou, A. I., Theodoridis, A., Makrantonaki, E., and Zouboulis, C. C. (2012), Skin anti-aging strategies. *Dermato-Endocrinology*, 4(3), 308–319.
- Gauza-Włodarczyk. M., Kubisz. L. And Włodarczyk, D., (2017), Amino acid composition in determination of collagen origin and assessment of physical factors effects. *International journal of biological macromolecules*. 104. 987-991.
- Geel, L., Kinnear, M., and de Kock H.L. 2005, Relating consumer preferences to sensory attributes to instant coffee. *Food Quality and Preference*, 16:237–244.
- Gomez-Guillen, M. C., Giménez, B., Lopez-Caballero, ' M. E., and Montero, M. P. (2011), Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1813–1827.
- Gómez-Guillén. M. C., Giménez. B., López-Caballero. M. A. and Montero. M. P., (2011), Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food hydrocolloids*, 25(8). 1813-1827.
- Gómez-Guillén, M. C., Perez-Mateos, M., Gómez-Estaca, J., Lopez-Caballero, E., Gimenez, B. and Montero, P., 2009, Fish Gelatin: A Renewable Material for Developing Active Biodegradable Films. *Trends in Food Science And Technology*, 20: 3-16.
- Greene, D. M., 2003, Use of poultry collagen coating and antioxidants as flavor protection for cat foods made with rendered poultry fat, MSc thesis Virginia, Polytechnic Institute and State University, Virginia, United States,
- Guo, L., Harnedy, P. A., Zhang, L., Li, B., Zhang, Z., Hou, H., et al. (2015). In vitro assessment of the multifunctional bioactive potential of Alaska pollock skin collagen following simulated gastrointestinal digestion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 1514–1520.

- Güllüce A., 2016. Gıda katkı maddesi olarak kullanılabilecek rekombinant jelatin üretimi için CollA1 gen fragmanlarının maya sisteminde transkripsiyonu. Doktora Tezi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Erciyes. 20-45.
- Gülmez, M. ve Güven, A., 2005, Fonksiyonel Gıdalar ve Sağlıkla İlişkisi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kars. 11(1): 17 24p.
- Han, Y., Xie, J., Gao, H., Xia, Y., Chen, X., & Wang, C. (2015). Hepatoprotective effect of collagen peptides from cod skin against liver oxidative damage in vitro and in vivo. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 71(2), 1089–1095.
- Hashim. P., Ridzwan. M. M., Bakar, J. and Hashim, M. D., 2015. Collagen in food and beverage industries. *International Food Research Journal*. 22(1). 1.
- Hickman, D., Sims, T. J., Miles, C., Bailey, J., De Mari, M. and Koopmans, M., 2000, Isinglass/ collagen: denaturation and functionality, *Journal of Biotechnology*, 79 (3), 245–57.
- Hunter, D. J., 2011, Pharmacologic therapy for osteoarthritis—the era of disease modification, *Nature Reviews Rheumatology*, 7(1), 13-22.
- Ishak, N., ve Sarbon, N. A. (2018). Review of protein hydrolysates and bioactive peptides deriving from wastes generated by fish processing. *Food and Bioprocess Technology*, 11, 2–16.
- Irastorza, A., Zarandona, I., Andonegi, M., Guerrero, P., and de la Caba, K. (2021). The versatility of collagen and chitosan: From food to biomedical applications. *Food Hydrocolloids*, 116, 106633.
- İpek, F., 2018, Tekstil renklerinin görsel renk yönetim sistemi ile değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Jain, S., Kaur, H., Pandav, G., Dewan, A. and Saxena, D., 2014, Collagen: Basis of Life. *Universal Research Journal of Dentistry*, 4(1). 1-9.
- Jendricke, P., Kohl, J., Centner, C., Gollhofer, A., & König, D. (2020). Influence of specific collagen peptides and concurrent training on cardiometabolic parameters and performance indices in women: A randomized controlled trial. *Frontiers in Nutrition*, 7, 262.
- Jing, X., Li, H., Mi, H. Y., Liu, Y. J., & Tan, Y. M. (2019). Fabrication of fluffy shish-kebab structured nanofibers by electrospinning, CO₂ escaping foaming and controlled crystallization for biomimetic tissue engineering scaffolds. *Chemical Engineering Journal*, 372, 785-795.
- Keskin, M., Şetlek, P. ve Demir, S., 2017, Use of color measurement systems in food science and agriculture, *International Advanced Researches and Engineering Congress- 16-18 November 2017*, Osmaniye, Türkiye.
- Kim, T.-K., Hwang, K.-E., Sung, J.-M., Park, J.-D., Kim, M.-H., Jeon, K.-H., et al. (2018). Replacement of pork back fat with pre-emulsion of wheat (Triticum

- aestivum L.) sprout and collagen and its optimization for reduced-fat patties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(4), Article e13576.
- Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Shahidi, F. (2012). Cryoprotective effect of gelatin hydrolysate from blacktip shark skin on surimi subjected to different freeze-thaw cycles. *LWT*, 47(2), 437-442.
- Konica Minolta, 2007, Precise color communication, Konica Minolta Photo Sensing Inc., Japonya.
- Kumar, A., Elavarasan, K., Hanjabam, M. D., Binsi, P. K., Mohan, C. O., Zynudheen, A. A., et al. (2019a). Marine collagen peptide as a fortificant for biscuit: Effects on biscuit attributes. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 109, 450–456.
- Kumar, K. K., Singh, S., Chakraborty, S., Das, J., Bajaj, M., Hemanth, V., et al. (2019b). Recycling fish skin for utilization in food industry as an effective emulsifier and foam stabilizing agent. *Turkish Journal of Biochemistry*, 44(3), 332–343.
- Kutas, R (1987) Great Sausage Recipes and Meat Curing. New York: Macmillan Publishing Co.
- Lauritano, C. and Ianora, A. (2016). Marine organisms with anti-diabetes properties. *Marine Drugs*, 14, 220.
- Lee, I.A., Ha, M.A. and Shin, Y.W. (2019). Inhibitory Effects of Collagen Coated Coffee Bean Intake on Skin Aging. *Journal of People Plants Environment*, 22, (1), 39-52.
- Leitinger, B., and Hohenester, E. (2007), Mammalian collagen receptors. *Matrix Biology*, 26(3), 146-155.
- Ma, Y., Teng, A., Zhao, K., Zhang, K., Zhao, H., Duan, S., et al. (2020), A top-down approach to improve collagen film's performance: The comparisons of macro, micro and nano sized fibers. *Food Chemistry*, 309, Article 125624.
- Miller, E.J. and Gay, S., 1987, The collagens: an overview and update, *Methods Enzymol* 144, 3-41.
- Morello, J.R., Motilva, M.J., Tovar, M.J. ve Romero, M.P., 2004, Changes in commercial virgin olive oil (cv. Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction, *Food Chemistry*, 85:357–364.
- Moskowitz R., 2000, Role of collagen hydrolysate in bone and joint disease, seminars in arthritis and rheumatism, Vol:30. 2: 87-99pp.
- Mistry, K., van der Steen, B., Clifford, T., van Holthoon, F., Kleinnijenhuis, A., Prawitt, J., ... & McConnell, A. (2021). Potentiating cutaneous wound healing in young and aged skin with nutraceutical collagen peptides. *Clinical and Experimental Dermatology*, 46(1), 109-117.
- Najumudeen, F., 2012, Avon celebrates 20th anniversary of skincare brand.

- Neklyudov, A. D., 2003, Nutritive fibers of animal origin: Collagen and its fractions as essential components of new and useful food products, *Applied Biochemistry and Microbiology*, 39(3), 229-238.
- Nurhadi, B., Andoyo, R. and Indarto, R., 2012, Study the properties of honey powder produced from spray drying and vacuum drying method, *International Food Research Journal*, 19 (3), 907.
- Nomura, Y., Oohashi, K., Watanabe, M. and Kasugai, S., (2005), Increase in bone mineral density through oral administration of shark gelatine to ovariectomized rats. *Nutrition* 21(11-12): 1120– 1126.
- Oechsle, A. M., Huppler, M., Weigel, F., Gibis, M., Kohlus, R., & Weiss, J. (2016). Modulation of extruded collagen films by the addition of co-gelling proteins. *Journal of Food Engineering*, 171, 164–173.
- Oertzen-Hagemann, V., Kirmse, M., Eggers, B., Pfeiffer, K., Marcus, K., de Marées, M., et al. (2019). Effects of 12 Weeks of hypertrophy resistance exercise training combined with collagen peptide supplementation on the skeletal muscle proteome in recreationally active men. *Nutrients*, 11, 1072.
- Ohara, H., Ito, K., Iida, H. and Matsumoto, H., 2009. Improvement in the moisture content of the stratum corneum following 4 weeks of collagen hydrolysate ingestion. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*. 56(3). 137-145.
- Pal, G. K. and Suresh, P. V. (2016). Sustainable valorisation of seafood by-products: Recovery of collagen and development of collagen-based novel functional food ingredients. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 37, 201–215.
- Palamutoglu, R., & Kasnak, C. (2019). Antioxidant effect on fish collagen hydrolysate addition to meatballs. *Mugla Journal of Science and Technology*, 5, 56–61.
- Phawaphuthanon, N., Yu, D., Ngamnikom, P., Shin, I. S., & Chung, D. 2019. Effect of fish gelatine-sodium alginate interactions on foam formation and stability. *Food Hydrocolloids*, 88, 119-126.
- Polatçı, H., Yıldız, A.K., Saraçoğlu, O., Adsız, E. ve Aksüt, B., 2017, Görüntü işleme yöntemleri kullanılarak kivi meyvesinin kuruma performansı ve renk değişiminin belirlenmesi, *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 34(Ek sayı): 105-112.
- Prabhu, G. A., Doerschner, D. R., & Hull, D. H. (2004). Utilization of pork collagen protein in emulsified and whole muscle meat products. *Journal of Food Science*, 69(5), C388–C392.
- Prestes, R. C., Graboski, A., Roman, S. S., Kempka, A. P., Toniazzo, G., Demiate, I. M., et al. (2013). Effects of the addition of collagen and degree of comminution in the quality of chicken ham. *The Journal of Applied Poultry Research*, 22(4), 885–903.
- Ramachandran, G. N., & Kartha, G. (1954). Structure of collagen. *Nature*, 174(4423), 269-270.

- Rich, A., & Crick, F. H. C. (1955). The structure of collagen. In *The Excitement of Discovery: Selected Papers of Alexander Rich: A Tribute to Alexander Rich* (pp. 103-104).
- Rousselot, 2011, The production of collagen hydrolysate, Rousselot Company, France.
- Santana, A. A., Martin, L. G. P., de Oliveira, R. A., Kurozawa, L. E. and Park, K. J. (2017). Spray drying of babassu coconut milk using different carrier agents. *Drying Technology*, 35(1), 76-87.
- Santana, R. C., Perrechil, F. A., Sato, A. C. K. and Cunha, R. L. 2011, Emulsifying properties of collagen fibers: Effect of pH, protein concentration and homogenization pressure, *Food Hydrocolloids*, 25(4), 604-612.
- Saito, M., Kiyose, C., Higuchi, T., Uchida, N., & Suzuki, H. (2009). Effect of collagen hydrolysates from salmon and trout skins on the lipid profile in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10477–10482.
- Schrieber, R. and Gareis, H., 2007, *Gelatine handbook: theory and industrial practice*. John Wiley & Sons.
- Schrieber, R., and Gareis, H. (2007), *Gelatine Handbook. Theory and Industrial Practice*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim. 335 p.
- Sharma, S.R., Poddar, R. and Sen, P., 2008, Effect of vitamin C biosynthesis degree of birefringence in polarization sensitive optical coherence tomography, *African Journal of Biotechnology*, 7: 2049-2054.
- Shen, X., Zhang, M., Bhandari, B., & Gao, Z. (2019). Novel technologies in utilization of byproducts of animal food processing: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(21), 3420–3430.
- Shishir, M. R. I., Taip, F. S., Aziz, N. A. and Talib, R. A., 2014, Physical properties of spray-dried pink guava (*Psidium guajava*) powder, *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 74-81.
- Skov, K., Oxfeldt, M., Thøgersen, R., Hansen, M., & Bertram, H. C. (2019). Enzymatic hydrolysis of a collagen hydrolysate enhances postprandial absorption rate-A randomized controlled trial. *Nutrients*, 11, 1064.
- Somuncu, F., 2018, Oral kolajen kullanımı, <https://www.fatihsomuncu.com/services/oral-kollajen-kullanimi/> [Ziyaret Tarihi: 25.12. 2022].
- Song, H., Meng, M., Cheng, X., Li, B., & Wang, C. (2017). The effect of collagen hydrolysates from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin on UV-induced photoaging in mice: Molecular weight affects skin repair. *Food & function*, 8(4), 1538-1546.
- Soo, T. and Tan, M., 2009, *Vitagen collagen: A strategic innovation*, industry report, Food and beverage Asia, Malaysia: Malaysia Dairy Industries Pte Ltd.

- Sousa, S.C., Fragoso, S.P., Penna, C.R.A., Arcanjo, N.M.O., Silva, F.A.P., Ferreira, V.C.S., Barreto, M.D.S., and Araújo, Í.B.S. 2017. Quality parameters of frankfurter-type sausages with partial replacement of fat by hydrolyzed collagen. *LWT - Food Science and Technology*, 76, Part B, 320-325.
- Suurs, P., and Barbut, S. (2020). Collagen use for co-extruded sausage casings—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 102, 91-101.
- Surh, J., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2006). Properties and stability of oil-in-water emulsions stabilized by fish gelatin. *Food Hydrocolloids*, 20(5), 596-606.
- Syamaladevi, R. M., Insan, S. K., Dhawan, S., Andrews, P. and Sablani, S. S., 2012, Physicochemical properties of encapsulated red raspberry (*Rubus idaeus*) powder: Influence of high-pressure homogenization, *Drying Technology*, 30 (5), 484-493.
- Tan, C. C., Karim, A. A., Uthumporn, U., & Ghazali, F. C. (2020). Effect extraction temperature on the emulsifying properties of gelatin from black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) skin. *Food Hydrocolloids*, 108, 106024.
- Tazeoğlu, F., 2022. Kolajen kullanımıyla yumuşak şekerleme üretimi. Yüksek Lisans Tezi, *Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul. 15-16.
- Thottappillil, N., and Nair, P. D. (2015). Scaffolds in vascular regeneration: current status. *Vascular health and risk management*, 79-91.
- Tometsuka, C., Funato, N., Mizuno, K., & Taga, Y. (2021). Long-term intake of ginger protease-degraded collagen hydrolysate reduces blood lipid levels and adipocyte size in mice. *Current Research in Food Science*, 4, 175–181.
- Tontul, İ., Ergin, F., Eroğlu, E., Küçükçetin, A. and Topuz, A., 2018a, Physical and microbiological properties of yoghurt powder produced by refractance window drying, *International Dairy Journal*, 85, 169-176.
- Tontul, İ., Eroğlu, E. and Topuz, A., 2018b, Convective and refractance window drying of cornelian cherry pulp: Effect on physicochemical properties, *Journal of Food Process Engineering*, 41 (8), 1–8.
- Tontul, İ., ve Topuz, A., 2017, Spray-drying of fruit and vegetable juices: Effect of drying conditions on the product yield and physical properties, *Trends in Food Science & Technology*, 63, 91-102.
- Tümerkan, E. T. A., Cansu, Ü., Boran, G., Mac Regenstein, J., & Özoğul, F. (2019). Physiochemical and functional properties of gelatin obtained from tuna, frog and chicken skins. *Food Chemistry*, 287, 273-279.
- Van Der Rest, M. and Garrone. R., 1991. Collagen Family of Proteins. *FASEB Journal*. 5(13). 2814–2823.
- Vargas-Muñoz, D. P., and Kurozawa, L. E. 2020. Influence of combined hydrolyzed collagen and maltodextrin as carrier agents in spray drying of cocona pulp. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23, e2019254.

- Wang, L., Jiang, Y., Wang, X., Cui, H., Xu, W., He, Y., et al. (2018). Effect of oral administration of collagen hydrolysates from Nile tilapia on the chronologically aged skin. *Journal of Functional Foods*, 44, 112–117.
- Wang, W., Jiang, Y., & Zhou, W. (2013). Characteristics of soy sauce powders spray-dried using dairy whey proteins and maltodextrins as drying aids. *Journal of Food Engineering*, 119(4), 724-730.
- Wangtueai, S., Phimolsiripol, Y., Vichasilp, C., Regenstein, J. M., and Schoenlechner, R. (2020). Optimization of gluten-free functional noodles formulation enriched with fish gelatin hydrolysates. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 133, Article 109977.
- Walrand, S., Chiotelli, E., Noirt, F., Mwewa, S., & Lassel, T. (2008). Consumption of a functional fermented milk containing collagen hydrolysate improves the concentration of collagen-specific amino acids in plasma. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(17), 7790-7795.
- Waszkowiak, K., and Dolata, W. (2007). The application of collagen preparations as carriers of rosemary extract in the production of processed meat. *Meat Science*, 75(1), 178–183.
- Xu, J., Liu, F., Goff, H. D., and Zhong, F. (2020). Effect of pre-treatment temperatures on the film-forming properties of collagen fiber dispersions. *Food Hydrocolloids*, 107, 105326.
- Yavaş, Y., Sezgin, A. H., Bilget, S., Aras, H., Varol, B., Demir U. ve Musmul, A., 2019, Esogü Tıp ve Mühendislik Fak. 2. sınıf öğrencilerinin besin destekleri ve bitkisel ürün kullanımı konusundaki tutumlarının araştırılması, *Türk Tıp Öğrencileri Araştırma Dergisi*, 1(3), 59-66.
- Yetim, H., 2011. Jelatin üretimi, özellikleri ve kullanımı. 1. Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi Gıda Katkı Maddeleri: Sorunlar ve Çözüm Önerileri. 86-94.
- Yu, W., Xu, D., Zhang, H., Guo, L., Hong, T., Zhang, W., ... & Xu, X. (2020). Effect of pigskin gelatin on baking, structural and thermal properties of frozen dough: Comprehensive studies on alteration of gluten network. *Food Hydrocolloids*, 102, 105591.
- Zamorano-Apodaca, J. C., García-Sifuentes, C. O., Carvajal-Mill' an, E., VallejoGalland, B., Scheuren-Acevedo, S. M., & Lugo-S' anchez, M. E. (2020). Biological and functional properties of peptide fractions obtained from collagen hydrolysate derived from mixed by-product of different fish species. *Food Chemistry*, 331, Article 127350. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127350>.
- Zdzieblik, D., Oesser, S., Gollhofer, A., & Konig, D. (2017). Improvement of activityrelated knee joint discomfort following supplementation of specific collagen peptides. *Applied Physiology Nutrition and Metabolism*, 42(6), 588–595.
- Zhang, Y., Wang, S.Y., Wang, C.Y. ve Zheng, W., 2007, Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments, *LWT- Food Sciene and Technology*, 40 (1): 49-57.

- Zhang, Z., Li, G. and Shi, B. I., 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(1), 23–28.
- Zhao, X., Zhang, X., & Liu, D. (2021). Collagen peptides and the related synthetic peptides: A review on improving skin health. *Journal of Functional Foods*, 86, Article 104680.
- Zhuang, Y., Sun, L., Zhang, Y., & Liu, G. (2012). Antihypertensive effect of long-term oral administration of jellyfish (*Rhopilema esculentum*) collagen peptides on renovascular hypertension. *Marine Drugs*, 10(2), 417–426.
- Znamirowska, A., Szajnar, K. and Pawlos, M., 2020, Probiotic fermented milk with collagen, *Dairy*, 1(2), 126-134.

