







Yuceer, M., et al., Sıvı Yumurta Akından Lizozimin Ekstraksiyonu, Saflaştırılması ve Sprey Kurutucu ile Kurutulması: Güncel Gelişmeler ve Uygulamaları. International Journal of Life Sciences and Biotechnology, 2023 6(1): p. 245-261. DOI: 10.38001/ijlsb.1227391

Sıvı Yumurta Akından Lizozimin Ekstraksiyonu, Saflaştırılması ve Sprey Kurutucu ile Kurutulması: Güncel Gelişmeler ve Uygulamaları

Muhammed Yuceer^{1*} , Cemre Çelikten² , Rukiye Mavuş² , Ebubekir Dişli² , Şeyma Ağırak Akgün² , Emre Sarı² 

ÖZET

Gıdalarda doğal koruyucu olarak kullanılan lizozim, ticari açıdan önemli bir doğal enzim olup, farklı gıda mamullerinin (peynir, bira ve şarap) imalatında kullanılan bir antimikrobiyal ajan (koruyucu katkı maddesi) veya mikrobiyal prosesleri kontrol etmek amacıyla da tercih edilmektedir. Ayrıca lizozim doğal ve güvenli biyolojik antiseptik olup, tıp, ilaç gibi farklı uygulamalarda değerlendirilmektedir. Lizozimin moleküler büyüklüğü (14,3 kDa) göz önüne alındığında moleküler boyuta göre ayırım yapan ultrafiltrasyon prosesinin lizozimin ayrıştırılmasında kullanılması son zamanlarda çokça çalışılan bir konu haline gelmiştir. Ultrafiltrasyon yöntemi ile protein fraksiyonu işletme şartları ve fizikokimyasal koşullardan oldukça etkilenmektedir ve bu nedenle proses ihtiyaçlarının açıkça belirlenmesi gerekmektedir. Bu derleme çalışması ile lizozim ekstraksiyon, saflaştırma ve kurutma proseslerindeki güncel gelişmeler ve uygulamaları ele alınmıştır.

MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş

9 Ocak 2023

Kabul

14 Haziran 2023

ANAHTAR

KELİMELELER

Yumurta, albumin, lizozim, proses membran filtrasyon, püskürtmeli kurutucu

Extraction, Purification and Dehydration with Spray Drying of Lysozyme from Egg White: Current Developments and Applications

ABSTRACT

Lysozyme is used as a natural preservative in foods and currently used as a natural antimicrobial agent in various foods to control microbial processes or preservative agent-additive in the production of cheese, beer and wine. In addition, lysozyme is accepted as a natural and safe biological antiseptic and is widely preferred in fields such as medicine and pharmaceuticals. Considering the molecular size of the lysozyme (14.3 kDa), the use of ultrafiltration process that distinguishes according to molecular size in the separation of lysozyme has recently become widely studied. Ultrafiltration method used in the protein fraction and the process is highly affected by the operating conditions and physicochemical conditions, and therefore the process needs to be clearly documented. In this review, current developments and applications in lysozyme extraction, purification and drying processes are discussed.

ARTICLE HISTORY

Received

09 January 2023

Accepted

14 June 2023

KEYWORDS

Egg, albumin, lysozyme, process membrane filtration, spray drying

¹ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale Teknik Bilimler MYO, Gıda İşleme Bölümü, Çanakkale, Türkiye

² Gemak Gıda Endüstri Makinaları ve Tic. A.Ş., Ar-Ge Merkezi, Ankara, Türkiye

*Corresponding Author: Muhammed Yuceer, e-mail: myuceer@comu.edu.tr

Giriş

Yumurta fonksiyonel bir gıda olarak toplumun sağlıklı beslenmesi yönünden mükemmel bir besindir. Mükemmel fonksiyonel özelliklere ve birçok biyolojik aktiviteye sahip olan yumurta ekonomik değerinin yanı sıra bir insanın ihtiyacı için gereken tüm makro ve mikro besin öğelerini yapısında bulunduran temel bir besindir [1, 2]. Geçtiğimiz on yılda yumurta bilimi araştırmalarında, yumurtanın doğası, biyolojik, kimyasal ve fiziksel özellikleri hakkındaki anlayışımızı tamamlayan çalışmalarla önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Ülkemiz kabuklu yumurta üretimindeki sıralamada dünyada ilk 10'da yer almasına rağmen, işlenen ürün ve katma değere sahip ürün portföyü ile işlenmiş ürünlerin ihracatı konusunda çok ilerleme kaydedilmemiştir [3].

Yumurta; yumurta kabuğu ve zarı (%9-12) ile yumurta akı (%60) ve yumurta sarısı (%30-33) olmak üzere 3 ana bileşenden oluşmaktadır. Yumurtanın ana bileşenlerini ise su (%75), proteinler (%12), lipidler (%12) ve karbonhidratlar ve mineraller (%1) oluşturmaktadır [4, 5].

Günümüzde gelişen yeni uygulama trendleri ile gıda endüstrisinde doğal ve doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal bileşenlerin kullanıldığı yeni yöntem ve ürünlere olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Gıdalarda doğal koruyucu olarak kullanılan lizozim enzimi mikrobiyal yükü kontrol altına almak amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca lizozim doğal ve güvenli biyolojik antiseptik olarak kabul edilmekte ve tıp, ilaç gibi alanlarda da uygulanmaktadır [3, 6, 7].

Lizozim (Muramidaz veya N-asetil muramik-hidrolaz, EC 3.2.1.17), yumurta beyazında bulunan bir enzim olup, yumurta albümini (beyaz-ak) ise bu enzimin en uygun ticari kaynağıdır [8, 9]. Lizozim günümüzde biyoteknolojik metotlarla bazı bitkilerden, bakterilerden ve bakteriyofajlardan da izole edilmektedir. Ancak yumurtanın içerisinde bulunan lizozim en yüksek çözünürlüğe ve aynı zamanda en kararlı stabiliteye sahip olanıdır.

Lizozimin molekül ağırlığı 14.3 kDa olup, izoelektrik noktası 10.7'dir ve 129 aminoasit kalıntısından oluşmaktadır. Aralarında enzimin aktif bölgesi bulunan uzun bir α -sarmal ile birbirine bağlanan iki alandan oluşmaktadır [Products, #1694]. Lizozimin yüksek pH değerine sahip olması bakterilerin gelişimini sınırlandırılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle Gram negatif bakterilere karşı bakteriyostatik, bakteriyolitik ve bakterisidal aktivite gösterir [11]. Gram pozitif(+) bakterilere karşı antimikrobiyal etkiye

sahip olup hücre duvarına karşı bakteriyostatik, bakterisidal ve bakteriyolitik aktivitesi bilinmektedir [12]. Lizozimin enzimatik hidrolizinin, proteinin antibakteriyel kısımlarını açığa çıkararak ve antibakteriyel aktiviteye sahip peptitler üreterek aktivitesini arttırdığı bulunmuştur [13, 14]. Lizozimin antibakteriyel özellikleri, periodontite neden olan bakterilere karşı korunmak ve ağız mukozasındaki enfeksiyonları önlemek için diş macunu, gargara ve sakız gibi ağız sağlığı bakım ürünlerinde kullanılmasında da etkili olmuştur [15]. Gıda ambalaj malzemelerine de dahil edilen lizozim, mikroorganizmaların kontaminasyonunu veya büyümesini önleyerek steril olmayan veya minimum düzeyde işlenmiş gıdaların raf ömrünü uzatma potansiyeline sahiptir. Yenilebilir filmler ayrıca potansiyel antimikrobiyal paketlenme sistemleri olarak da araştırılmıştır [16].

Peynir yapımında, özellikle preslenmiş ve pişirilmiş lorlardan yapılan peynirlerde istenmeyen tatlara ve geç “üfleme” (istenmeyen fermantasyon) neden olan *Clostridium tyrobutyricum*'un büyümesini önlemek için lizozim kullanılmıştır [17]. Lizozim ayrıca, starter bakterilerin lizizi, peynir olgunlaşması sırasında proteolizden önemli rol oynayan sitoplazmik enzimlerin salınmasına neden olduğu için peynir olgunlaşmasının hızlandırılmasında da kullanılmıştır [18]. Lizozim enziminin *Clostridium tyrobutyricum*, *Clostridium thermosaccharolyticum* ve *Bacillus stearothermophilus* gibi mezofilik ve termofilik spor oluşturan bakterilerin gelişimi üzerine inhibisyonu etkisi söz konusudur. Ayrıca *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium jejuni*, *Clostridium botulinum* ve *Listeria monocytogenes* üzerindeki litik aktivitesi bilinmektedir [Products, #1694]. Ayrıca lizozimin nisin ve EDTA ile kompleks oluşturarak ile gram negatif (-) bakterilere karşı da inhibe edici özelliği bulunmaktadır [20, 21].

Lizozim, gıda endüstrisinde sorun yaratan 2 ana patojen olarak kabul edilen *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium botulinum* gibi gıda kaynaklı patojenleri kontrol etme kabiliyetine sahiptir. Lizozim, balık, kümes hayvanları ile çeşitli sebzelerde *Clostridium botulinum* kaynaklı enterotoksin oluşumunu kontrol etmektedir. Lizozimin kimyasal ve termal işlemlerle modifikasyonlarının antimikrobiyal özelliklerini arttırdığı bildirilmektedir. Lizozim mikrobiyal gelişme üzerindeki inhibisyon etkisi yanında antiviral, antiinflamatuvar ve terapötik etkilere de sahiptir [22-24].

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve birçok ülke lizozimin gıdalarda koruyucu olarak kullanılmasına izin vermektedir ve şu anda kimuchi turşusu, suşi, Çin eriştesi, taze balık ve et muhafazasında, peynir ve şarap üretiminde kullanılmaktadır. Lizozim ayrıca bazı

veteriner ilaçlarında, diş ve dişeti rahatsızlıklarının tedavisi ile göz damlalarında kullanıldığı bilinmektedir [Products, #1694].

Lizozimin WHO ve FAO tarafından 1993 yılında toksik olmadığı bildirilmesinin ardından lizozim günümüzde yapay antimikrobiyal koruyucuların yerini alarak doğal koruyucu olarak gıdalarda kullanılmaya başlanmıştır ve Japonya, İngiltere, Fransa, İtalya, Almanya ve Avusturya gibi birçok ülke lizozimi gıdalarda doğal koruyucu olarak kullanmaya başlamıştır. Ticari bir değere sahip olan lizozim sıklıkla peynir, bira ve şarap üretiminde koruyucu olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde lizozim üretimi yapan bir tesis bulunmamakta olup Çin, Hindistan, Belçika, Almanya, İtalya ve Hollanda'dan ithal edilmektedir. Lizozim, gıdalarda kullanım için düzenleyici kurumlar tarafından onaylanan birkaç doğal antimikrobiyal ajanlardan biridir. Lizozim, hücre duvarlarında N-asetilmuramik asit ve peptidoglikanın N-asetilglukozamin arasındaki bağları ayırarak gram-pozitif bakteriler üzerinde esas olarak antimikrobiyal aktivite gösterir; bununla birlikte, gram negatif bakterilerin peptidoglikan tabakasını çevreleyen koruyucu dış zarı destabilize eden EDTA ile birleştirildiğinde, lizozimin antimikrobiyal etkisi önemli ölçüde artar [6, 20, 25, 26].

Gıda uygulamalarında, istenmeyen bakterilerin büyümesini önlemek için gıda ürünlerine doğrudan lizozim eklenir. Örneğin, Avrupa'da enzim, Edam ve Gouda gibi peynirlerde ve *Clostridium tyrobutyricum*'un neden olduğu gaz üflemesinin önlenmesinde kullanılmaktadır [20, 27]. Lizozim et ve ürünlerinin muhafazasında nisin veya EDTA ile kombine edilerek ve ayrıca şaraplarda malolaktik fermantasyon kontrolü için tek başına kullanımına ilişkin kapsamlı çalışmalar bulunmaktadır [24, 28-30]. Gıda teknolojisinde lizozimin başka bir kullanımı, antimikrobiyal ambalaj malzemelerinin imalatı için lizozimin plastik-film/yenilebilir filmlere dahil edilmesini içerir. Farklı çalışmalarda, lizozim, polivinil alkol (PVOH) ve selüloz asetat gibi plastik malzemeler için ve zein, peynir altı suyu proteinleri, aljinat, karragenan ve kitosan gibi yenilebilir ve biyolojik olarak parçalanabilen malzemeler için antimikrobiyal filmlerin üretiminde kullanılmıştır [22, 31-36].

Lizozimin izolasyonunda kullanılan birçok yöntem bulunmaktadır. Bunlardan bazıları ise; kristalizasyon, iyon değiştirme (reçine ekstraksiyonu), ultrafiltrasyon, çift fazlı ayırma, ters misel ekstraksiyon, afinite membran kromatografi, farklı boyaarla biyoafinite ve N-asetil glukozamin prensipleridir. Çalışma kapsamında bunlar arasında

günümüzde güncel olarak kullanılan teknikler ele alınacaktır. Güçlü bir bazik protein olarak kabul gören lizozimin izolasyonu için çeşitli birçok ayırma yöntemleri kullanılsa da bunların sadece bir kısmı günümüzde ticari ölçekte uygulanabilmektedir [37]. Çalışmalarda lizozimin yumurta akından eldesinde genellikle seyreltilmiş yumurta akı başlangıç malzemesi olarak kullanılmakta ve bu uygulama ürünün ticari açıdan değerlendirilmesini güçleştirmektedir. Lizozim enziminin doğal kaynağından ve niteliklerini koruyarak ekstraksiyonu ticari ve endüstriyel yönüyle de büyük önem taşımaktadır [3, 37-39].

Günümüzde kullanılan geleneksel yöntem reçine ekstraksiyonudur. Farklı kristallendirme ve çöktürme işlemlerinin uygulandığı bu yöntemde ürün farklı kimyasallar ve organik çözücülerle işlem görerek pH değerine göre ayırım sağlanmaktadır. Bu yöntemde teknik olarak lizozim iyon değişim reçineleri kullanılarak çözünürlük, iyonik yük, polarite ve reçineye spesifik bağlanma karakterine göre ayırım gerçekleştirilmektedir.

Geleneksel yöntem yerine kullanılmaya başlanan yenilikçi bir yöntem ise membran filtrasyonu tekniğidir. Membran ayırma yöntemlerinden biri olan ultrafiltrasyon yönteminin lizozimin yumurta akından ayrıştırılmasında kullanılması üzerine çalışmalar gerçekleştirilmektedir [6, 40, 41]. Geleneksel yöntemlere kıyasla birçok alanda uygulanabilen filtrasyon yöntemleri arasında ise; saflaştırma, arıtma ve ürün geri kazanımı gibi işlemler ön plana çıkmaktadır. Filtrasyon yöntemlerini geleneksel yöntemlere göre avantajlı kılan bazı durumlar vardır. Bu yöntemin yüksek seçicilik özelliğinden dolayı uygulama alanları fazladır. Ayırma sırasında faz ayırımı gerçekleşmediği için yüksek ısı uygulamasına ihtiyaç duyulmamaktadır. Birçok prosese göre karşılaştırıldığı zaman karmaşık değildir ve düşük bakım ve onarım imkânı sunmaktadır. Ayrıca çevre dostu yeşil bir proses olup, sürekli ve otomatik olarak üretim sağlayabilmektedir. Bunlara ek olarak kapasite artırımına olanak sağlarlar ve başka bir üretim hattına adapte edilmeleri de kolaydır. Bu avantajlarının yanı sıra yüksek üretim ve pazarlama maliyeti, polimer membranlarda kirlenme ve düşük sıcaklık dayanımı gibi dezavantajları da söz konusudur. Filtrasyon yöntemlerinde kullanılan membranlar seçici bir şekilde moleküler veya fiziksel boyuta göre bileşenlerin geçişini sınırlayarak iki fazı birbirinden ayıran ve bariyer görevi gören bir zardır. Membranlar basınç, sıcaklık, konsantrasyon, elektriksel iletkenlik, potansiyel farkı gibi sürücü kuvvetler sayesinde

ayrım sağlar. Biyoteknoloji alanındaki hızlı büyüme ile büyük ölçekli protein saflaştırma proseslerinin geliştirilmesi önem kazanmıştır [42].

Çöktürme, kristalleştirme ve santrifüjleme gibi geleneksel tekniklerin, zayıf ayırma seçiciliği söz konusudur. Kromatografi ve elektroforez gibi yüksek çözünürlüklü teknikler daha yüksek bir maliyetle düşük ürün verimi sağlamaktadır. Ultrafiltrasyon işlemleri, çok yüksek bir ürün verimi sağlamakta ve protein fraksiyonasyonunda yüksek seçicilik sunmaktadır. Lizozimin moleküler büyüklüğü (14,3 kDa) göz önüne alındığında moleküler boyuta göre ayırım yapan ultrafiltrasyon prosesinin lizozimin ayrıştırılmasında kullanılması son zamanlarda çokça çalışılan bir konu haline gelmiştir. Ultrafiltrasyon yöntemi ile protein fraksiyonu proses koşulları ve fizikokimyasal karakterizasyondan etkilenmektedir ve bu nedenle de proses ihtiyaçlarının açıkça belirlenmesi gerekmektedir [43].

Lizozim eldesi için geleneksel yöntem olan reçine ekstraksiyonu yerine filtrasyon yöntemi kullanıldığında daha az su, tuz ve kimyasal kullanımının yanında ısıl işlem ve reçine ihtiyacı da ortadan kalkmaktadır. Ayrıca üretim süresi de düşmektedir. Tavuk yumurtasının beyazındaki düşük lizozim içeriği (yaklaşık %3,5), bunun saflaştırılmasını teknolojik bir zorluk haline getirmektedir çünkü az miktarda lizozim elde etmek için önemli miktarda proteinin işlenmesi gerekir. Böyle bir durumda ultrafiltrasyon, kromatografi ve elektroforez sistemine göre avantajlı olmaktadır. Ultrafiltrasyon prosesinin bir diğer önemli avantajı, ürünün yabancı parçacıklardan arınmış olmasıdır. Eğer işlem steril koşullarda yapılırsa bakteri veya partikül madde içermeyen (eczacılıkta kullanıma uygun) saf lizozim solüsyonu üretilebilir. Diğer biyo-ayırma işlemlerinde, ek bir membran filtrasyon aşaması gerekli olmaktadır [44].

Chang ve ark. [45] yaptıkları bir çalışmada yumurta akı iki kat konsantre edildiğinde 30 kDa'lık bir ultrafiltrasyon membranından sınırlı miktarda lizozimin (%2-4) geçirildiğini bulmuştur. Durance [46] ise yaptığı bir çalışmada ultrafiltrasyon ile düşük bir lizozim verimine ulaşabilmiştir. Ehsani ve ark. [47] ise, 50 kDa modifiye edilmiş ve modifiye edilmemiş polisülfon membranlar kullanarak doğal yumurta akı solüsyonlarının fraksiyonasyonunu incelemiştir. Hem ovalbumin hem de lizozim geçişinin, çözeltinin pH'ı ve tuz konsantrasyonundan önemli ölçüde etkilendiğini ve dolayısıyla permeattaki bileşimi etkilediğini bulmuşlardır. Ghosh ve ark. [48] ise, 30 kDa içi boş fiber polisülfon membranlar kullanarak yumurta akından lizozim ayırımı üzerine çalışmışlar ve optimize

edilmiş koşullar altında yüksek lizozim aktarımı (>%90) ve orta derecede saf lizozim (%80-90) elde edilebileceğini bulmuşlardır. Lizozimin yumurta akından etkili bir şekilde ayrılmasını sağlamak için, Ghosh and Cui [44] tarafından yapılan çalışmada 50 kDa Molecular weight cut-off (MWCO) membranın yüksek akışını 25 kDa MWCO membranın yüksek seçiciliği ile birleştiren iki aşamalı bir ultrafiltrasyon işlemi geliştirilmiştir. Bu süreç, lizozimin yumurta akından ayrılmasındaki düşük verim ve zayıf seçiciliğin üstesinden gelmiştir. Oldukça karmaşık olan bu sistemde çalışmalarda doğal yumurta akı çözeltileri yerine kurutulmuş yumurta akı kullanılmıştır. Farklı araştırmacılar tarafından bildirilen bu deneysel sonuçlardaki tutarsızlık, kullandıkları ayırma sistemlerindeki farklılıktan, yani farklı membranlar ve farklı çalışma koşullarından kaynaklanmaktadır. Bu durum aynı zamanda kullanılan ultrafiltrasyon membranlarının yanı sıra proses optimizasyonunun önemini de ortaya koymaktadır [43].

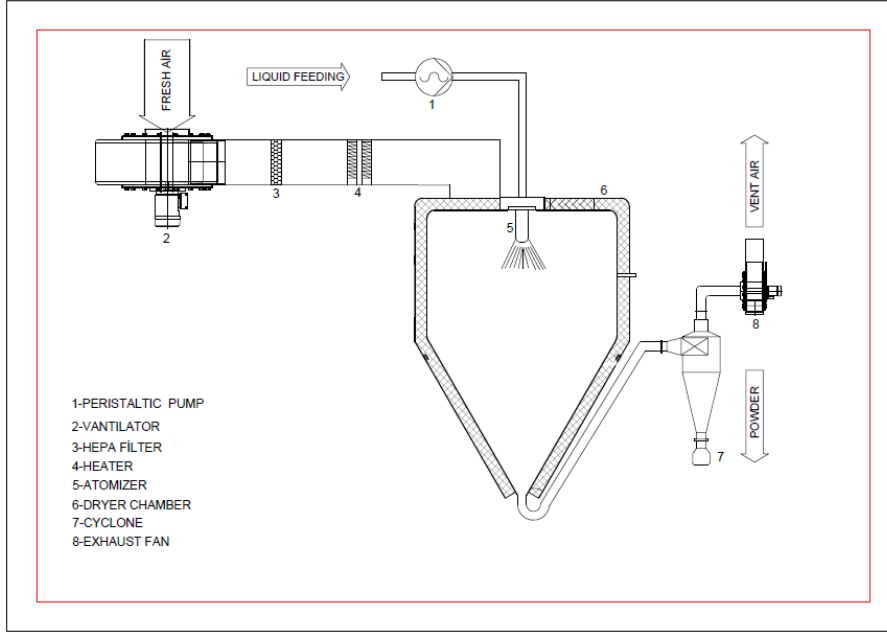
Lizozimin sıvı yumurtadan ayrılmasında denenen bir diğer yöntem olarak kromatografik tekniklerde ise farklı araştırmacılar çalışmıştır. Cibacron Blue 3GA (CB) ve CB ile modifiye edilmiş Streamline jel (CB- Streamline) ile özelleştirilmiş bir Nd-Fe-B alaşımı yoğunlaştırılmış agaroz (NFBA) jelinin genişletilmiş yatak kromatografisi yoluyla lizozimin saflaştırılmasını çalışan bir araştırmacı, iki boya-ligand adsorban için aynı statik kapasite gösterilmesine rağmen, CB-NFBA jelinin dinamik bağlama kapasitesi, CB-Streamline jelinin neredeyse iki katı olarak kaydetmiştir. Sonuçlar, küçük boyutlu yoğun ortam CB-NFBA jelinin çok daha büyük saflaştırma faktörü sağladığını, dolayısıyla daha etkili olduğunu ortaya koymuştur [41].

Poliakrilamid jel gibi farklı bileşenler kullanılarak yumurta akından lizozim ekstraksiyonu ile ilgili yapılan bir diğer çalışmada ise; gözenek oluşturucu bir madde olarak nano-silika parçacıklarından gözenekli yapıda ve lizozimi tutabilen poliakrilamid polimerlerini sentezlenmiştir. Gözenek oluşturucu madde içeren polimerlerin, silika ilave edilmeyenlere (7,54 mg/g) göre çok daha yüksek adsorpsiyon kapasitesine (17,1 mg/g) sahip olduğu gösterilmiştir. Çalışmada polimerlerin şişmesini ve yumuşaklığını ortadan kaldırmak için, mekanik güce sahip olan ve lizozimin büyük ölçekli saflaştırılması ve izolasyonunda uygulanabilen "yığın" şekilli polimer kullanılabileceği ifade edilmiştir [41].

Nem içeriği yüksek olan gıdaların yapısında bir bozulma meydana gelmemesi için bünyesinde bulunan nem içeriğinin azaltılması gerekmektedir. Yüksek nem içeriği olan

gıda maddelerinin kurutulması ile hem gıda ürünlerin raf ömrü artmakta hem de ürün hacmi azalmaktadır. Kurutma, katı-toz ürünler elde etmek için gıdalarda bulunan suyu buharlaştırma yoluyla uzaklaştırmak için kontrollü koşullar altında ısı uygulaması olarak tanımlanmaktadır. Kurutmanın temel amacı, gıdaların su içindeki aktivitelerini azaltarak raf ömürlerini uzatmaktır. Gıdaların bozulmasına ve çürümesine neden olan mikroorganizmalar ve gıdanın kimyasal bileşiminde istenmeyen değişikliklere neden olan enzimlerin çoğu, yeterli su olmadığında gelişemez, çoğalamaz veya işlev göremez. Endüstride püskürtme ile kurutma ve dondurarak kurutma ve tepsilerde kurutma gibi farklı kurutma metotları kullanılmaktadır [45]. Püskürtmeli kurutma, gazlı sıcak kurutma ortamından yararlanarak sıvı bir malzemenin kurutulmuş parçacıklara dönüştürülmesini içeren iyi bilinen bir parçacık üretimi yöntemidir. Aslında taşıyıcı sistemler için tasarlanmış mikroküre ve mikrokapsüllerin üretimi oldukça yaygındır. Püskürterek kurutma işleminin mekanizması farklı aşamalarda açıklamaktadır: ilk olarak atomizasyon sonrasında ise damlacıkların parçacığa dönüşmesi ve parçacık toplama şeklinde süreç ilerlemektedir. Bu adımlar aynı zamanda atomizasyon, damlacık ve sıcak gaz arasındaki temas ve gaz-toz ayrımı şeklinde de adlandırılabilir [46, 47]. Püskürtmeli kurutucular konsantre çözeltilerin içerisindeki sıvının buharlaştırma yoluyla uzaklaştırılması için kullanılan sistemlerdir. Sıvının uzaklaştırılması sonucu toz halinde kurutulmuş ürün elde edilir. Kurutma havası ise doğrudan atmosfere bırakılmaktadır [48]. Besleme çözeltisinin hazırlanmasından sonra püskürtmeli kurutma işlemi üç ana basamakta gerçekleşmektedir. Sıvı beslemenin atomizasyonu aşamasında sıvı partiküllerin toza dönüşmesi ve toz ürünün siklon altında veya kollektörde toplanması gerçekleşmektedir. Atomizasyon işleminde, sıvı besleme bir perisaltatik pompa yardımıyla atomizere gelmekte ve atomizerde yüzey alanı artırılarak kurutma çemberine gönderilmektedir. Atomizasyon işleminin amacı: etkin ve verimli kurutma sağlayabilmek için sıvı beslemenin küçük damlacıklara ayrıştırılarak kurutma havası ile temas edecek maksimum yüzey alanının yaratılmasıdır. Sıvı damlacıkların sıcak hava ile etkileşimi kurutma haznesinde gerçekleşmektedir. Sıcak hava ile temas eden sıvı damlacıkların sıcaklığı artmakta, buharlaşma sıcaklığına ulaştıca ise su buharlaşmaktadır. Püskürtülen partiküllerin nem içeriği kritik nem içeriğine ulaştığında, damlacık yüzeyinde kuru tabaka oluşmakta ve aniden toz formuna dönüşmektedir. Oluşan toz partiküller besleme özelliklerine ve kurutma koşullarına bağlı olarak küresel, delikli mikro kürecikler ya da

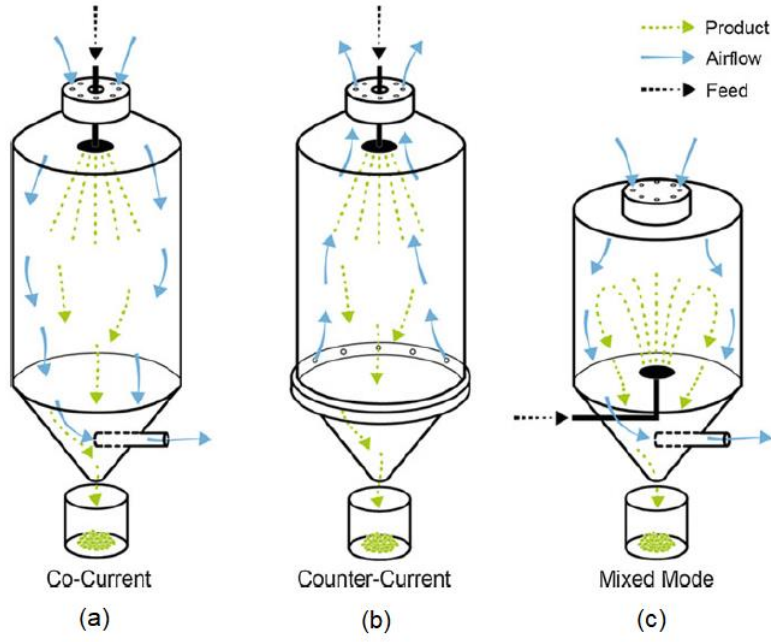
düzensiz şekillerde olabilmektedir. Kurutma işlemi tamamlandığında oluşan toz partiküller hava ile birlikte siklon separatöre taşınmakta ve siklon seperatörün tabanında birikmektedir [49]. Şekil 1’de kurutma prosesine ait ekipmanlar ve örnek bir tasarım paylaşılmıştır.



Şekil 1 Püskürtmeli Kurutma Prosesi ve ekipmanları

Fig 1 Spray drying process and equipments

Sıcak havanın kurutma haznesine girişi paralel yön (a), karşıt yön(b) ve karışık yön (c) gibi farklı şekillerde olabilmektedir (Şekil-2). Hava ve sıvı besleme giriş yönünün aynı olduğu sistemler paralel akımlı sistemler olarak adlandırılmakta olup paralel akımlı akışlarda ani buharlaşma sonucunda oluşan kuru partiküller termal degradasyon limiti olan orta derecede sıcaklığa maruz kalmaktadır. Karşıt akımlı sistemlerde ise; sıvı besleme ve hava akımı ters yönden sağlanmakta olup; kuru partiküller doğrudan çok yüksek sıcaklıklara maruz kaldığı için ısıya duyarlı ürünlerin kurutulmasında tercih edilmemektedir [50]. Karşıt akımlı sistemler paralel akımlılara göre daha ekonomiktir. Isıya duyarlı bileşenlerce zengin gıdalar için paralel yönde beslenen sıcak hava tercih edilmektedir [51]. Yüksek sıcaklıkta beslenen hava siklona doğru soğumakta ve böylece toz ürün yüksek olmayan sıcaklıktaki havayla temas ederek termal bozulma azaltılabilmektedir.



Şekil 2 Püskürtmeli kurutucu şematik gösterimi (a) paralel yön, (b) karşıt yön ve (c) karışık yön [52]

Fig 2 Schematic representation of the spray dryer (a) parallel direction, (b) opposite direction and (c) mixed direction [52]

Kurutma İşlemine Etki eden Parametreler

Püskürtmeli kurutucu işleminde son ürün kalitesini etkileyen işlem koşulları arasında; atomizer dönüş hızı, hava giriş sıcaklığı, hava giriş hızı, hava çıkış sıcaklığı ve sıvı besleme akış hızı gibi faktörler yer almaktadır.

a) Hava giriş sıcaklığı

Hava giriş sıcaklığı püskürtülerek kurutulmuş toz ürünün kalite özelliklerine etki eden en önemli faktörlerden biridir. Püskürtmeli kurutma işlemi genellikle 150-300 °C hava sıcaklıkları arasında olup besleme sıvısının özelliklerine bağlı olarak bu sıcaklık değişiklik göstermektedir [53, 54]. Yüksek hava giriş sıcaklıkları kuruma hızını ve verimini artırarak; işlem süresini, toz ürünün nem içeriğini ve yığın yoğunluğunu azaltmaktadır [55]. Hava giriş sıcaklığı püskürtmeli kurutucuda kurutulmuş tozların partikül boyutları üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Yüksek hava giriş sıcaklıklarında damlacıklarda bulunan suyun hızlı buharlaşması sonucunda yeterli miktarda büzüşme olmamakta ve büyük partikül boyutlu parçacıklar oluşmaktadır. Yapılan çalışmalarda yüksek sıcaklıklarda kurutulan örneklerin partikül boyutunun, düşük sıcaklıkta kurutulanlara göre daha büyük olduğu belirtilmiştir [56].

Pigmentler, C vitamini karotenler ve fenolik bileşenler gibi ısıya duyarlı bileşenler hava giriş sıcaklığından önemli ölçüde etkilenmektedir. Hava giriş sıcaklığı arttıkça oksidasyona ve termal bozulmaya bağlı olarak ısıya duyarlı bileşenlerde kayıplar meydana gelmektedir [57].

b) Atomizasyon işlemi

Sistemde kurutulacak sıvının bir nozuldan (püskürtme ucu) geçirilerek sprey haline gelmesi sağlanır. Püskürtme ucundan püskürtülerek toz halinde kurutulacak olan sıvının yüzey alanı artırılır, sonrasında sıcak hava ile karşı karşıya getirilir. Püskürtme ucunun büyüklüğü, kurutucunun boyutuna göre farklılık arz etmektedir. Püskürtmeli sistemlerde temel amaç ısı ve kütle transferini optimize etmek için kuru hava ile sıvı arasında en yüksek düzeyde ısı transfer yüzeyinin sağlanmasıdır [58, 59].

Atomizerin dönüş hızındaki artış ise besleme sıvısının daha küçük damlacıklar halinde sisteme girmesi sağlamaktadır. Bu durumda hava ile damlacıkların temas yüzeyi artmakta ve nem içeriği düşük toz ürün elde edilmektedir. Bununla birlikte yüksek atomizer hızı sağladığı geniş yüzey alanı sayesinde kurutma hızını artırmanın yanı sıra damlacık yüzeyinde kabuk oluşumunu engellemekte ve sonuç olarak partikül boyutunun küçülmesine neden olmaktadır. Ayrıca yüksek atomizer hızında, yığın yoğunluğunun yüksek olduğu belirtilmiştir [53]. Ticari olarak satılan atomizerler sistemde kullanılan enerji tipine göre ayrılmakta olup, bunlar kinetik enerji nozulu, sonikasyon atomizeri, santrifüj atomizer ve basınçlı nozul türleridir [60-62].

c) Kurutma hava akış hızı

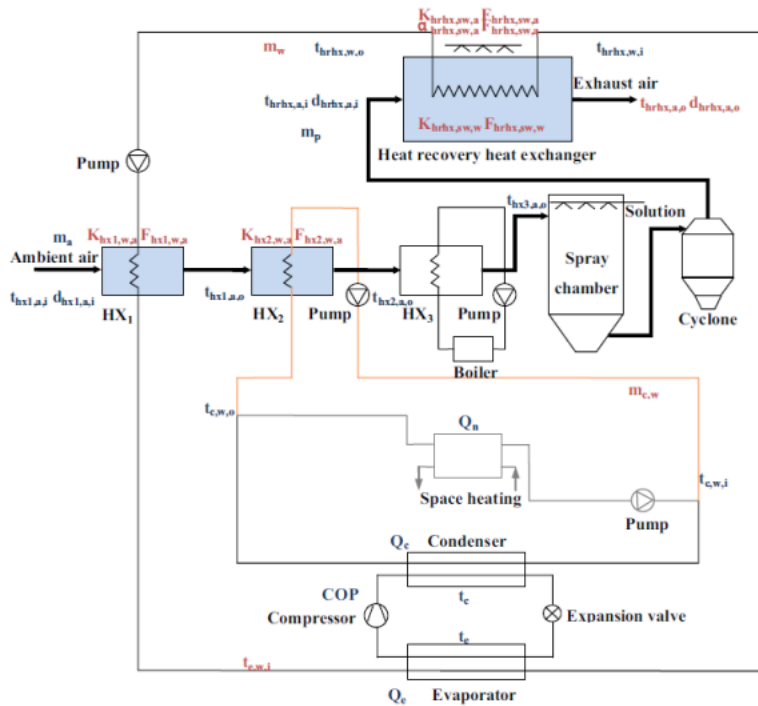
Püskürtmeli kurutucuda kullanılan kurutma hava akış hızı, kurutma kabine beslenen hava akış hızını temsil etmekte olup; sıvı beslemeden buharlaştırılması gereken su miktarı için gereken enerjiyi sağlamaktadır. Kurutma havasının akış hızı, suyun buharlaşma hızını etkilemektedir.

d) Besleme Akış Hızı

Püskürtmeli kurutma işleminde yüksek besleme akış hızı pompa hızı ile ilişkili olup besleme sıvısının giren hava ile temas etme süresini kısaltmaktadır. Temas süresine bağlı olarak ısı transfer verimliliği ve buharlaşan su miktarı azalmaktadır. Bu durum elde edilen toz ürünün nem içeriğinde artışa neden olmaktadır. Yüksek besleme hızı, ısı ve kütle transferini azalttığı için oluşan yüksek nemli toz ürünler kuruma kabine yapışmaktadır. Ayrıca yüksek besleme hızında sıvı besleme atomizerde yeterince kalamadığı için

damlacıklar oluşmamakta ve doğrudan kuruma kabineine geçen bir kısım sıvı besleme verimi düşürmektedir [63].

Ai ve ark.[64] yaptıkları çalışmada, proteinin kurutulmasında vakumla dondurarak kurutmanın püskürteli kurutmaya nazaran ürüne daha çok zarar verdiğini göz önünde bulundurarak protein tozu eldesinde püskürtmeli kurutma tercih etmişlerdir. Şekil 3'te görülen bu sistemin atık havasının değerlendirilip havanın ön ısıtması veya ısınma ihtiyacı şeklinde kullanılabileceği öngörülmektedir. Protein çözeltisinin yeterince kurutulmasını garanti etmek için püskürtme odası, sıcak hava 190°C'ye ısıtılmakta ve oda bu sıcaklıkta sabit tutulmaktadır. Püskürtmeli kurutma işlemi sırasında tesisin sürekli çalışma koşulları; proteinin kütle akışı 2,78 kg/s, sıcaklığı 65°C ve kütle konsantrasyonu ise %10 olarak düzenlenmiştir. Bu nedenle, çıkış havası sıcaklığı ve nemi, kütle ve enerjinin korunumu ilkelerine kapsamaktadır. Sonuç olarak tasarlanan sistem ile elde edilen enerji sayesinde geri ödemesi süresi 2,4 yıldır. Ayrıca ortam ve giriş havası sıcaklığı eşanjörünün ısı geri kazanım miktarını belirlemektedir.

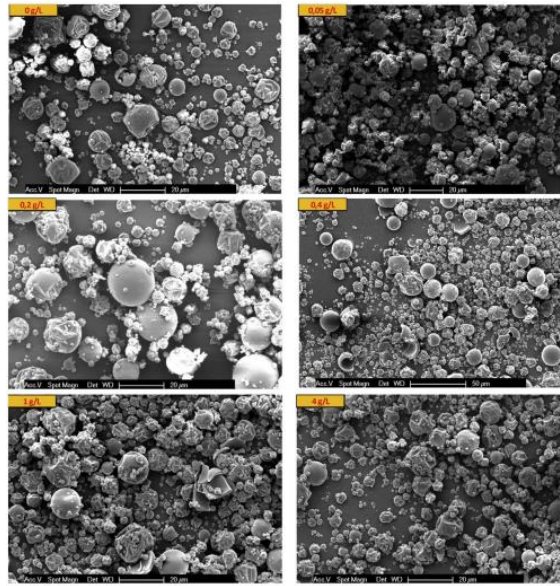


Şekil 3 Isı geri kazanımı için sistematik diyagram [64]

Fig 3 Schematic diagram for heat recovery [64]

Amara ve ark. [65] yapmış oldukları bu çalışmanın amacı, püskürterek kurutma yoluyla Şekil 4'te görüldüğü gibi kapsüllenmiş lizozimin (0.714 g/L konsantrasyonda)

özelliklerinin yanı sıra artan pektin konsantrasyonları (0,4 g/L) ile kompleksleştirmenin lizozim yapısının korunması üzerindeki etkisini değerlendirmektir. Lizozim ve lizozim-pektin komplekslerinin püskürtülerek kurutulması, artan pektin konsantrasyonları ile oluşturulan farklı polisakkarit ağlarında antimikrobiyal enzimin kapsüllemesi ile sonuçlanmıştır. Çalışmada elektrostatik biyopolimer komplekslerinin oluşumu, çözeltinin bulanıklığını arttırmış ve lizozim antimikrobiyal aktivitesini azaltmıştır. Püskürterek kurutmanın uygulanması üzerine, ara pektin konsantrasyonunda daha düşük agregasyona sahip daha fazla bireysel kompleksler oluşturulmuştur. Püskürterek kurutulmuş lizozim ürünüde, antimikrobiyal aktivitede yaklaşık %36,5'lik bir azalma görülmüştür. Bununla birlikte, ara pektin konsantrasyonları ile kompleks oluşturmanın, spreyle kurutma işlemi sırasında lizozim aktivitesini koruduğu gösterilmiştir.



Şekil 4 Püskürtülerek kurutulmuş lizozim kapsülleri [65]

Fig 4 Spray-dried lysozyme capsules [65]

Sonuç

Bu çalışmada, lizozimin adsorpsiyon ve saflaştırma performansı üzerinde farklı tekniklerin kullanımı ele alınarak kurutma prosesi detaylandırılmıştır. Membran filtrasyon tekniklerinin yüksek saflaştırma verimliliği nedeniyle lizozim ekstraksiyonunda yaygın bir uygulama olarak kullanıldığı görülmektedir. Gelecekte lizozim eldesine etki eden farklı çalışma parametrelerinin lizozimin kinetik adsorpsiyonu

üzerindeki etkilerinin sistematik olarak araştırılması gerekmektedir. Lizozim çözeltilerinin kurutulmasında ise püskürtmeli kurutucuların verimlilik avantajları göz önünde bulundurularak uygulayıcılar arasında tercih sebebi olduğu belirlenmiştir.

Gıda Sanayinde yapay antimikrobiyal koruyucu katkı maddelerinin yerini artık doğal gıda koruyucuları almaktadır. Günümüzde tüketici talepleri doğrultusunda biyo-koruma tekniklerine olan ilgi artmaktadır. Bu kapsamda lizozim gibi doğal antimikrobiyal bileşenler tercih edilmektedir. Artan rekabet ile lizozim gibi doğal kaynaklardan elde edilebilen enzimlerin çiğ veya işlenmiş gıdalardaki kullanım alanı da artmıştır. Lizozim, kabuklu yumurta gibi bazı ürünlerin dış yüzeyinin kaplanmasına yönelik bilimsel çalışmalara da konu olmuştur [31, 33, 66, 67]. Ülkemizde daha az işlenmiş ve az katkı maddesi içeren yeni ve fonksiyonel gıda ürünlerinin üretilmesine yönelik çalışmalara yön verilebilmesi açısından yumurta ve yumurta ürünlerinde daha fazla bilimsel çalışmanın ve uygulama pratiklerinin yapılması ve sonrasında ticarileştirilmesi önem arz etmektedir.

Teşekkür

3200782 numaralı projeye destekleri için TÜBİTAK, Teknoloji ve Yenilik Destek Programları Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

Funding / Fon desteği

The author did not receive support from any organization for the submitted work.

Yazar, gönderilen çalışma için herhangi bir kuruluştan destek almamıştır.

Data Availability statement / Veri Kullanılabilirliği bildirimi

The author confirms that the data supporting this study are cited in the article.

Yazar, bu çalışmayı destekleyen verilere makalede atıfta bulunulduğunu onaylamaktadır.

Compliance with ethical standards / Etik standartlara uyum Conflict of interest / Çıkar çatışması

The author declare no conflict of interest.

Yazar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

Ethical standards / Etik standartlar

The study is proper with ethical standards.

Çalışma etik standartlara uygundur.

Kaynaklar

1. Yüceer, M., R. Temizkan, and C. Caner, Fonksiyonel Gıda Olarak Yumurta: Bileşenleri ve Fonksiyonel Özellikleri. Akademik Gıda, 2012. 10(4): p. 70-76.
2. Wu, J., Eggs and Egg Products Processing, In Food Processing: Principles and Applications, S. Clark, S. Jung, and B. Lamsal, Editors. 2014, John Wiley & Sons, Ltd. p. 437-455.
3. Yüceer, M., Yumurta ve Yumurta Ürünleri İşleme Teknolojisi ve Uygulamaları 2019: Sidas Medya Ltd.Şti.
4. Kovacs-Nolan, J., M. Phillips, and Y. Mine, Advances in the Value of Eggs and Egg Components for Human Health. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005. 53: p. 8421-8431.

5. Vaclavik, V.A. and E.W. Christian, Egg and Egg Products, in *Essentials of Food Science*, Second. Ed., V.A. Vaclavik and E.W. Christian, Editors. 2003, Kluwar Academic / Plenum Publishers. p. 187-213.
6. Yüceer, M., Yumurta Biyoaktif Bileşenleri (2): Lizozim. *Yumurta Üreticileri Merkez Birliği Dergisi*, 2022. 58: p. 30-33.
7. Yüceer, M., Yumurta ve Türevlerinin Bazı Katma Değerli Uygulamaları. *Catering Guide*, 2022. 18(98): p. 44-45.
8. Anton, M., F. Nau, and Y. Nys, Bioactive Egg Components and their Potential Uses. *World's Poultry Science Journal*, 2006. 62(03): p. 429-438.
9. Abeyrathne, E.D., H.Y. Lee, and D.U. Ahn, Egg white proteins and their potential use in food processing or as nutraceutical and pharmaceutical agents-a review. *Poultry Science*, 2013. 92(12): p. 3292-9.
10. Young, A.C.M., R.F. Tilton, and J.C. Dewan, Thermal expansion of hen egg-white lysozyme: Comparison of the 1.9 Å resolution structures of the tetragonal form of the enzyme at 100 K and 298 K. *Journal of Molecular Biology*, 1994. 235(1): p. 302-317.
11. Cegielska-Radziejewska, R., G. Leśniewski, and J. Kijowski, Properties and Application of Egg White Lysozyme and Its Modified Preparations - A Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2008. 58(1): p. 5-10.
12. Huopalahti, R., et al., *Bioactive Egg Compounds*, ed. R. Schade. 2007, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
13. Ibrahim, H.R., U. Thomas, and A. Pellegrini, A helix-loop-helix peptide at the upper lip of the active site cleft of lysozyme confers potent antimicrobial activity with membrane permeabilization action. *Journal of Biological Chemistry*, 2001. 276(47): p. 43767-74.
14. Pellegrini, A., et al., Identification and isolation of a bactericidal domain in chicken egg white lysozyme. *Journal of Applied Microbiology*, 1997. 82(3): p. 372-8.
15. Tenovuo, J., Clinical applications of antimicrobial host proteins lactoperoxidase, lysozyme and lactoferrin in xerostomia: efficacy and safety. *Oral Disease*, 2002. 8(1): p. 23-9.
16. Appendini, P. and J.H. Hotchkiss, Immobilization of Lysozyme on Food Contact Polymers as Potential Antimicrobial Films. *Packaging Technology and Science*, 1997. 10(5): p. 271-279.
17. Danyluk, B. and J. Kijowski, The effect of lysozyme monomer on the growth of *Clostridium tyrobutyricum*. *Przemysł Spożywczy*. 12: p. 16-19.
18. Roos, A.L., P. Walstra, and T.J. Geurts, The Association of Lysozyme with Casein. *International Dairy Journal*, 1998. 8: p. 319-324.
19. Johnson, E.A. and A.E. Larson, Lysozyme, in *Antimicrobials in Food*, P.M. Davidson, A.L. Branen, and J.N. Sofos, Editors. 2005, CRC Press: Boca Raton, USA.
20. Khorshidian, N., et al., An Overview of Antimicrobial Activity of Lysozyme and Its Functionality in Cheese. *Frontiers in Nutrition*, 2022. 9: p. 833618.
21. Ferraboschi, P., S. Ciceri, and P. Grisenti, Applications of Lysozyme, an Innate Immune Defense Factor, as an Alternative Antibiotic. *Antibiotics (Basel)*, 2021. 10(12).
22. Nawaz, N., et al., Lysozyme and Its Application as Antibacterial Agent in Food Industry. *Molecules*, 2022. 27(19).
23. Leśniewski, G. and T. Yang, Lysozyme and its modified forms: A critical appraisal of selected properties and potential. *Trends in Food Science & Technology*, 2021. 107: p. 333-342.
24. Pilevar, Z., et al., Antimicrobial properties of lysozyme in meat and meat products: possibilities and challenges. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 2022. 44: p. e55262.
25. Padgett, T., I.Y. Han, and P.L. Dawson, Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. *Journal of Food Protection.*, 1998. 61(10): p. 1330-1335.
26. Branen, J.K. and P.M. Davidson, Enhancement of nisin, lysozyme, and monolaurin antimicrobial activities by ethylenediaminetetraacetic acid and lactoferrin. *International Journal of Food Microbiology*, 2004. 90(1): p. 63-74.

27. van den Berg, G., et al., Gouda and related cheeses, in *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, P.F. Fox, et al., Editors. 2004, Academic Press. p. 103-140.
28. Mastromatteo, M., et al., Use of lysozyme, nisin, and EDTA combined treatments for maintaining quality of packed ostrich patties. *Journal of Food Science*, 2010. 75(3): p. M178-86.
29. Chung, W. and R.E.W. Hancock, Action of lysozyme and nisin mixtures against lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 2000. 60: p. 25-32.
30. Nattress, F.M., C.K. Yost, and L.P. Baker, Evaluation of the ability of lysozyme and nisin to control meat spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 2001. 70: p. 111-119.
31. Yuceer, M. and C. Caner, Antimicrobial Lysozyme-Chitosan Coatings Affect Functional Properties and Shelf Life of Chicken Eggs during Storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2014. 94(1): p. 153-62.
32. Su Cha, D., et al., Antimicrobial Films Based on Na-alginate and κ -carrageenan. *LWT - Food Sci. and Tech.*, 2002. 35(8): p. 715-719.
33. Yuceer, M. and C. Caner, Lisozim-Kitosan Bazlı Antimikrobiyal Kaplama Uygulamasının Taze Yumurthanın Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Etkisi. *Akademik Gıda*, 2013. 11(1): p. 40-45.
34. Buonocore, G.G., et al., Modeling the Lysozyme Release Kinetics from Antimicrobial Films Intended for Food Packaging Applications. *Journal of Food Science*, 2003. 68(4): p. 1365-1370.
35. Park, S.I., M.A. Daeschel, and Y. Zhao, Functional Properties of Antimicrobial Lysozyme–Chitosan Composite Films. *Journal of Food Science*. 69(8): p. M215—221.
36. Min, S., L.J. Harris, and J.M. Krochta, Antimicrobial Effects of Lactoferrin, Lysozyme, and the Lactoperoxidase System and Edible Whey Protein Films Incorporating the Lactoperoxidase System Against *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157H7. *Journal of Food Science*, 2005. 70(7): p. M332-338.
37. Li, Z., et al., Functional Properties and Extraction Techniques of Chicken Egg White Proteins. *Foods*, 2022. 11(16).
38. Chiu, H.-T., et al., Direct purification of lysozyme from chicken egg white using weak acidic polyacrylonitrile nanofiber-based membranes. *Journal of Applied Polymer Science*, 2012. 125(S2): p. E616-E621.
39. Show, P.L., et al., Purification of lysozyme from chicken egg white by high-density cation exchange adsorbents in stirred fluidized bed adsorption system. *Food Chemistry*, 2021. 343: p. 128543.
40. Yao, X., et al., Extraction and Characterization of Lysozyme from Salted Duck Egg White. *Foods*, 2022. 11(22): p. 3567.
41. Shahmohammadi, A., Lysozyme separation from chicken egg white: a review. *European Food Research and Technology*, 2017. 244(4): p. 577-593.
42. Banani, S.F., et al., Biomolecular condensates: Organizers of cellular biochemistry. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2017. 18(5): p. 285-298.
43. Wan, Y., J. Lu, and Z. Cui, Separation of lysozyme from chicken egg white using ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 2006. 48(2): p. 133-142.
44. Ghosh, R. and Z.F. Cui, Purification of Lysozyme Using Ultrafiltration. *Biotechnology and Bioengineering*, 2000. 68(2): p. 191-203.
45. Fazaeli, M., et al., Effect of process conditions and carrier concentration for improving drying yield and other quality attributes of spray dried black mulberry (*Morus nigra*) juice. *International Journal of Food Engineering*, 2012. 8(1): p. 1-20.
46. Liu, W., X.D. Chen, and C. Selomulya, On the spray drying of uniform functional microparticles. *Particuology*, 2015. 22: p. 1-12.
47. Boel, E., et al., Unraveling Particle Formation: From Single Droplet Drying to Spray Drying and Electrospraying. *Pharmaceutics*, 2020. 12(7): p. 625.
48. Patel, S.K. and M.H. Bade, Energy analysis and heat recovery opportunities in spray dryers applied for effluent management. *Energy Conversion and Management*, 2019. 186: p. 597-609.

49. Khaire, R.A. and P.R. Gogate, Novel approaches based on ultrasound for spray drying of food and bioactive compounds. *Drying Technology*, 2021. 39(12): p. 1832-1853.
50. Cal, K. and K. Sollohub, Spray drying technique. I: Hardware and process parameters. *J Pharm Sci*, 2010. 99(2): p. 575-86.
51. Okuyama, K.A., M. Lenggono, I. W. and F. Iskandar, Preparation of functional nanostructured particles by spray drying. *Advanced Powder Technology*, 2006. 17(6): p. 587-611.
52. Wong, T.W. and P. John, Advances in spray drying technology for nanoparticle formation, in *Handbook of Nanoparticles*, M. Aliofkhazraei, Editor. 2016, Cham: Springer.
53. Ehsani, N., S. Parkkinen, and M. Nyström, Fractionation of natural and model egg-white protein solutions with modified and unmodified polysulfone UF membranes. *Journal of Membrane Science*, 1997. 123(1): p. 105-119.
54. Cao, C., et al., Effect of inlet temperature on the physicochemical properties of spray-dried seed-watermelon seed protein powder. *Journal of Food Science*, 2020. 85(10): p. 3442-3449.
55. Ghosh, R., S.S. Silva, and Z. Cui, Lysozyme separation by hollow-fiber ultrafiltration. *Biochemical Engineering Journal*, 2000. 6(1): p. 19-24.
56. Kha, T.C., M.H. Nguyen, and P.D. Roach, Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering*, 2010. 98(3): p. 385-392.
57. Murali, S., et al., Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying. *Food Science and Technology International*, 2015. 21(8): p. 604-12.
58. Francia, V., et al., Agglomeration in counter-current spray drying towers. Part A: Particle growth and the effect of nozzle height. *Powder Technology*, 2016. 301: p. 1330-1343.
59. Patel, R.P., M.P. Patel, and A.M. Suthar, Spray drying technology: an overview. *Indian Journal of Science and Technology*, 2009. 2(10): p. 44-47.
60. Singh, S. and D. Dixit, A Review on Spray Drying: Emerging Technology in Food Industry. *International Journal of Applied Engineering and Technology*, 2014. 4(1): p. 1-8.
61. Sivamma, M.E. and R. Sneetha, Atomization techniques in spray drying: A Review. *The Pharma Innovation Journal*, 2021. 10(5): p. 454-461.
62. Francia, V., et al., Agglomeration in counter-current spray drying towers. Part B: Interaction between multiple spraying levels. *Powder Technology*, 2016. 301: p. 1344-1358.
63. Tonon, R.V., C. Brabet, and M.D. Hubinger, Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae Mart.*) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 2008. 88(3): p. 411-418.
64. Ai, S., et al., Analysis of a heat recovery system of the spray-drying process in a soy protein powder plant. *Applied Thermal Engineering*, 2016. 103: p. 1022-1030.
65. Amara, C.B., et al., Using complex coacervation for lysozyme encapsulation by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 2016. 183: p. 50-57.
66. Çelikten, C., R. Mavuş, and M. Yüceer, Separation of Lysozyme from Liquid Egg White by Membrane Filtration, in III. International Agricultural, Biological & Life Science Conference (AGBIOL 2021). 2021: Edirne, Turkey.
67. Yüceer, M., Effect of Ultrasound Pre-treatment on Separation of Lysozyme from Liquid Egg White in MEMTEK-2019. 6th MEMTEK International Symposium on membrane Technologies and Applications. 2019. Istanbul, Turkey.