

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**KÜLTÜRE EDİLEN ÇİPURA (*SPARUS AURATA*) VE
LEVREK (*DICENTRARCHUS LABRAX*) İŞLEME
SONUCUNDA ORTAYA ÇIKAN OMURGA
ATIKLARINDAN PROTEİN HİDROLİZAT ELDESİ
VE ELDE EDİLEN ÜRÜNLERİN FONKSİYONEL VE
ANTİOKSİDANT ÖZELLİKLERİ VE
DEPOLAMADAKİ KARARLILIĞI**

Kamil Emre TÜR KARSLAN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şükran ÇAKLI

Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 21.12.2017

Bornova-İZMİR

2017

Kamil Emre TÜRKARSLAN tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “KÜLTÜRE EDİLEN ÇİPURA (*SPARUS AURATA*) VE LEVREK (*DICENTRARCHUS LABRAX*) İŞLEME SONUCUNDA ORTAYA ÇIKAN OMURGA ATIKLARINDAN PROTEİN HİDROLİZAT ELDESİ VE ELDE EDİLEN ÜRÜNLERİN FONKSİYONEL VE ANTİOKSİDANT ÖZELLİKLERİ VE DEPOLAMADAKİ KARARLILIĞI” başlıklı bu alışma E Lisansüstü Eğitim ve ğretim Yönetmeliği ile E Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve ğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 21.12.2017 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

Jüri yeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Şükran ÇAKLI

.....

Raportör ye : Doç. Dr. Şebnem TOLASA YILMAZ

.....

ye : Yrd. Doç. Dr. Serkan KORAL

.....

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi / Doktora Tezi olarak sunduğum “KÜLTÜRE EDİLEN ÇİPURA (*SPARUS AURATA*) VE LEVREK (*DICENTRARCHUS LABRAX*) İŞLEME SONUCUNDA ORTAYA ÇIKAN OMURGA ATIKLARINDAN PROTEİN HİDROLİZAT ELDESİ VE ELDE EDİLEN ÜRÜNLERİN FONKSİYONEL VE ANTİOKSİDANT ÖZELLİKLERİ VE DEPOLAMADAKİ KARARLILIĞI” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

22 / 12 / 2017

İmzası

Adı-Soyadı

ÖZET

KÜLTÜRE EDİLEN ÇİPURA (*SPARUS AURATA*) VE LEVREK (*DICENTRARCHUS LABRAX*) İŞLEME SONUCUNDA ORTAYA ÇIKAN OMURGA ATIKLARINDAN PROTEİN HİDROLİZAT ELDESİ VE ELDE EDİLEN ÜRÜNLERİN FONKSİYONEL VE ANTİOKSİDANT ÖZELLİKLERİ VE DEPOLAMADAKİ KARARLILIĞI

Türkarşlan, Emre

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şükran ÇAKLI

Aralık 2017, 45 sayfa

Bu tez kapsamında “Türkiye’de kültüre edilen çipura (*Sparus aurata*), levrek (*Dicentrarchus labrax*) işlenmesi sonucunda ortaya çıkan artıklardan; protein hidrolizat eldesi ve elde edilen ürünlerin bazı fonksiyonel ve antioksidant özelliklerinin tespit edilmesi ve dondurarak depolama süresindeki dengesinin belirlenmesi” hedeflenmiştir. Protein hidrolizatı, protein bakımından zengin ham balık artıklarının enzimatik hidrolizinden oluşur. Enzimlerin yardımıyla, proteinlerin amino asitlerine parçalanması amacıyla üretilmektedir.

Balık işleme sektöründe oluşan yan ürünler düşük pazarlama değeri ekonomik olmayan kaynak olarak kabul edilir ve uygunsuz yöntemler ile bertaraf edildiğinde çevresel sorunlara ve kirliliğe sebebiyet vermektedir. Bu amaçla, elde edilecek olan protein tozunun gıdaların zenginleştirilmesi ve sporcu takviyesi ürün olarak kullanımı planlanmaktadır.

Balık proteini hidrolizatları, proteince zengin balık ham materyalinin enzimatik hidrolizinden oluşur. Hidrolizatların; lezzet geliştirici, gıda zenginleştirme, gıdalarda beslenme katkısı veya fonksiyonel gıdalarda kullanım alanları mevcuttur. Protein takviyesi olarak; enerji içeceklerinde, yaşlıların gıda takviyelerinde, spor yapanların beslenmesinde ve kilo-kontrolünde kullanılmaktadır. Tıbbi alanda; öncelikle fenilketonüri (PKL), hipoalerjen bebek

VIII

mamalarında, karaciğer hastalıklarında, pankreasla ilgili hastalıklarda ve rektumun iç çeperinde ülserlere ve tahrişe sebebiyet veren hastalıklarda kullanılabilmektedir (Clemente, 2000). Hidrolizatların sahip olduğu özelliklerin direkt olarak gıda hammaddesi olarak kullanımı ile antioksidant ve fonksiyonel özellikleri de etkilemektedir. Bu çalışmada elde edilen hidrolizatlarda; hidroliz derecesinin ölçülmesi; fonksiyonel özelliklerin tespiti (protein çözünürlüğü, emülsiyon özellikleri, köpürme özellikleri, renk özellikleri, su tutma kapasitesi (WHC), antioksidant özellikler (DPPH (1,1-diphenyl-2-pic-ryhydryl) serbest radikali giderme kapasitesi, antioksidatif aktivite tespiti ve metal şelatlama) ve antioksidatif peptitlerin saflaştırılma ve amino asit diziliminin tanımlanması yapılarak tüm bulguların sonuçlar grupları arası ve aylara bağlı istatistiksel analizler kullanılarak yorumlanmıştır.

Oluşan ürünlerin gıda ile ilgili ürünlerde bir içerik maddesi olarak kullanılması işlevseldir. Bu tez çalışmasında ülkemiz için önemli olan levrek, çipura işlenmesi aşamasında ortaya çıkan artıklardan protein hidrolizi üretimi yapılmıştır. Ayrıca bu tez çalışması kapsamında üretilen protein hidrolizatlarının fonksiyonel ve antioksidant özellikleri ve -18°C de dondurularak 6.ay da depolamadaki antioksidant özellik dengesi tespit edilecektir.

Anahtar kelimeler: Protein hidrolizatı, yan ürünler, çipura, levrek, fonksiyonel özellikler, depolama dengesi.

ABSTRACT**DETERMINATION OF FUNCTIONAL AND ANTIOXIDANT
CHARACTERISTICS AND STABILITY ON STORAGE OF
PROTEIN HYDROLYSAT FROM VERTEBRATES WASTE FROM
THE TREATMENT OF SEA BREAM (*SPARUS AURATA*) AND SEA
BASS (*DICENTRARCHUS LABRAX*)**

Turkarslan, Emre

MSc in Fisheries and Fish Processing Technology

Supervisor: Prof. Dr. Sukran CAKLI

December 2017, 45 pages

The byproducts in the fish processing sector are considered as low value sources by the value of insignificant marketing and they cause environmental pollution by improper disposal. By hydrolysis these products can be converted into acceptable form and made marketable. For this purpose, the protein powder to be obtained is planned to be enriched with foods and used as an athletic supplement product. Within the scope of this thesis, "sea bream (*Sparus aurata*), sea bass (*Dicentrarchus labrax*) cultivated in Turkey are collected from the spines of the resulting wastes; Protein hydrolyzate and some functional and antioxidant properties of the products obtained and determination of the stability during freeze storage ". Fish protein hydrolysate is product formed by enzymatic hydrolysis of protein rich fish raw material. They are produced by enzymes (proteolysis) to break down fish proteins into amino acids.

Raw material will be taken from a commercial processing plants which are already processing skinned and skinless fillets. These hydrolyses can also be used as a functional food ingredient or low quality food additives. Such formulations are designed to reduce or control diet-related chronic diseases such as atherosclerosis, cancer or liver failure, and also form the basis of special foods designed for the

treatment of very different diseases such as phenylketonuria (PKU), cystic fibrosis, Crohn's disease, food allergy and intolerance (Clemente, 2000). And proteins can also be hydrolysed biologically by producing active peptides. Bioactive peptide demonstrates the anti-oxidative activity. Hydrolysate and functional properties of the properties directly affect the use of food ingredient. The fish protein hydrolysates evaluated with the enzymatic hydrolysis of the protein rich fish material. In this study, degree of hydrolysis, some functional properties of protein hydrolysate (protein solubility, emulsion property, foaming property, color property, water holding capacity (WHC), anti-oxidative properties (DPPH radical-scavenging capacity, Antioxidative activity metal chelating assay) and purification of antioxidative peptides and determination of amino acid sequence will be determined. And also each monthly data will be compared by using statistical analysis.

The resulting product is very functional when used as an ingredient in food products. Certain enzymes and/or microbial starter cultures, which are not similar to silage production, are added to accelerate proteolysis. This thesis study will also produce protein hydrolysis from the wastes generated during the fillet processing of sea bass, sea bream, which is important for our country, by the most appropriate method. In addition, protein hydrolysates that produced the antioxidant properties and functional within the scope of this thesis study and the antioxidant balance in freeze storage -18°C will be determined.

Keywords: Protein hydrolyzate, by products, sea bream, sea bass, functional properties, storage stability.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca gerçekleştirdiğim çalışmalarında sevgisi ve ilgisiyle her zaman yanımda olan değerli hocam Sn. Prof. Dr. Şükran ÇAKLI'ya, bilgi ve tecrübelerinden sabah akşam demeden fayda sağladığım hocam Sn. Dr. Ömer Alper ERDEM'e teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, yüksek lisans yapmamda beni teşvik eden sevgili aileme ve hayatımı paylaştığım biricik eşim Gözde Gölge TÜR KARSLAN'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLERSayfa

ÖZET	VII
ABSTRACT	IX
TEŞEKKÜR	XI
İÇİNDEKİLER	XIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XVII
ÇİZELGE DİZİNİ	XVIII
SİMGE VE KISALATMALAR DİZİNİ.....	XIX
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1. Su Ürünleri Artıkları.....	11
2.1.1. Balık Unu ve Balık Yağı.....	12
2.1.2. Balık Silajı	13
2.1.3. Enzimler	14
2.1.4. Kolajen ve Jelatin	14
2.1.5. Protein Hidrolizatları	16
3. MATERYAL METOD.....	18

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

3.1. Ham Materyal.....	18
3.2. Kullanılacak Kimyasallar ve Enzimler.....	19
3.3. Üretim Metodu	19
3.3.1. Fileto Artıklarından Elde Edilecek Hidrolizat İçin Uygulanacak Metod	19
3.3.2. Balık Protein Hidrolizatların Depolanması	20
3.4. Analiz Metodları.....	21
3.4.1. Protein Çözünürlüğü.....	21
3.4.2. Hidroliz Derecesinin Ölçülmesi	21
3.5. Antioksidatif Özellikler	22
3.5.1. Dpph Serbest Radikalı Giderme Kapasitesi	23
3.5.2. Metal Şelatlama	23
3.5.3. Antioksidatif Aktivite	24
3.6. Fonksiyonel Özellikler	24
3.6.1. Emülsiyon Özellikleri.....	24
3.6.2. Köpürme Özellikleri.....	25
3.6.3. Su Tutma Kapasitesi (WHC).....	26

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

3.6.4. Yağ Tutma Kapasitesi.....	26
3.6.5. Renk Özellikleri.....	26
3.7. İstatistiksel Değerlendirme	27
4. BULGULAR	28
4.1. Protein Çözünürlüğü (%)	28
4.2. Hidroliz Derecesi	28
4.3. Antioksidatif Özellikler	29
4.3.1. DPPH	29
4.3.2. Metal Şelatlama	30
4.3.3. Antioksidatif Aktivite	30
4.4. Fonksiyonel Özellikler.....	31
4.4.1. Su Tutma Kapasitesi (WHC)	31
4.4.2. Yağ Tutma Kapasitesi.....	32
4.4.3. Emülsiyon Aktivite İndeksi	32
4.4.4. Emülsiyon Stabilite İndeksi.....	33
4.4.5. Köpürme Miktarı	33

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

4.4.6. Köpürme Stabilesi	34
4.4.7. Renk Özellikleri.....	35
4.4.8. Aminoasit Diziliminin Tanımlanması	35
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	38
KAYNAKLAR DİZİNİ	41
ÖZGEÇMİŞ.....	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Hidroliz işlemi sırasında görülen balık yağı ve diğer ürünler.....	12
1.2. Ham materyal	17
1.3. Parçalama.....	17
1.4. Hidrolizat işlem basamakları	20
1.5. Renk ölçümü.....	27

ÇİZELGE DİZİNİÇizelgeSayfa

1.1. Gruplar arasında protein çözünürlüğü değerlerindeki değişimler	28
1.2. Zamana bağlı türler arası hidroliz derecelerindeki değişimler	29
1.3. Gruplar arasında DPPH değerlerindeki değişimler	29
1.4. Gruplar arasında metal şelatlama değerlerindeki değişimler	30
1.5. Antioksidatif aktivitedeki değişimler	31
1.6. 0.gün gruplar arasında WHC değerindeki değişimler	31
1.7. 0.gün balık protein hidrolizatının yağ tutma kapasitesindeki değişimler	32
1.8. Gruplar arasında EAI'de meydana gelen değişimler (%).....	32
1.9. Gruplar arasında ESI'de meydana gelen değişimler	33
1.10. Gruplar arası köpürme miktarında meydana gelen değişimler.....	34
1.11. Gruplar arasında köpürme stabilitesinde meydana gelen değişimler	34
1.12. Renk özellikleri.	35
1.13. Balık protein hidrolizatlarının protein miktar yüzdeleri.....	36
1.14. Balık protein hidrolizatlarının aminoasit kompozisyonları.	36

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
Nm	Nanometre
Mg	Miligram
Ml	Mililitre
Abs	Absorbans
DPPH	1,1-diphenyl 1-2-picrylhydrazyl
SDS	Sodium dodecyl sulfate
FPH	Balık protein hidrolizat
HD	Hidroliz derecesi
LAPU	Leucine aminopeptidase
ACE	Angiotensin I-dönüştürücü enzim
PUFA	Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri
EAI	Emülsiyon aktivite endeksi
ESI	Emülsiyon stabilite indeksi
OHC	Yağ tutma kapasitesi
WHC	Su tutma kapasitesi

1. GİRİŞ

Dünyanın yaklaşık %71'i su ile kaplıdır. Bu bölgelerin çoğu su ürünleri yetiştiriciliği için uygundur. İnsanlar, bu suda yaşayan organizmaları, özellikle de balıkları besin kaynakları olarak tüketir veya kullanırlar. Bu nedenle, tüm ülkeler kaynaklarından mümkün olduğunca rasyonel ve hatta mevcut kaynakları arttırmak için daha iyi yol ve yöntemler aramaktadırlar.

2016 yılında Türkiye’de yetiştiricilik üretimi 253.395 ton olarak gerçekleşmiştir. Çipura balığı 58.254 ton, levrek balığı 80.847 ton olarak yetiştirilmiştir, ülkemizin toplam su ürünleri ihracatı yaklaşık 2,4 milyar Türk lirası değerindedir (TÜİK, 2016). Ülkemizde üretilen çipura ve levreklerin bir miktarı; su ürünleri tesislerinde fileto olarak işlenmekte ve ihracat edilmektedir. Dolayısıyla çipura ve levreklerin işlenmesi sırasında ortaya önemli miktarda; omurga kemiği, kuyruk, deri ve baş bölgesi gibi; yan ürünler ortaya çıkmaktadır. Bu yan ürünler günümüzde sadece yan ürün tesislerine gönderilerek düşük kalitede balık unu üretilmektedir ya da uygunsuz bertarafında çevre kirliliği ve sorunlarına sebebiyet vermektedir.

Balıkçılık yan ürünlerinin büyük bir kısmı Türkiye’de; yarı mamul balık yağı, balık unu, gübre, evcil hayvan yemi ve balık silajı üretiminde kullanılmaktadır. Geri kazanılan bu ürünlerin katma değeri oldukça düşüktür. Buna istinaden geliştirilen metotlar ile ortaya çıkarılacak yüksek katma değerli ürünler ile piyasaya ve ülke ekonomisine önemli katkılar sağlanacaktır.

Balıkta bulunan proteinin enzim yardımı ile aminoasitlere parçalanmasıyla üretilmektedir. Son ürün gıda sanayinde bir içerik maddesi olarak kullanıldığından işlevi çok fazladır. Toz protein hidrolizatı üretmek için sıcaklık, pH ve zaman gibi parametreler, elde edilmek istenen özellikleri yakalamak için oldukça iyi bir şekilde takip edilmek zorundadır. Araştırmalar için toz protein hidrolizatları oldukça önemli olsa da lezzeti, acılığı ve balığı andıran kokusu ile tüketim gıdalarında insanlar tarafından çok tercih edilmediği bildirilmiştir. Pek çok bilim insanı lezzet, koku ve tadı değiştirmek veya kaldırmak için çalışmalar yapmıştır. Geçtiğimiz on yıl içerisinde, bu alanda önemli çalışmalar yapılmış ve yeni metotlar geliştirilmiştir.

Bu alışmalar ışığında, protein hidrolizatlarının insan gıdasında takviye ve gıda zenginleştirici madde olarak kullanımı belirtilmiştir. (Benjakul and Morrissey, 1997)

Toz protein hidrolizatları, lezzet arttırıcı, fonksiyonel gıda maddeleri ve protein bakımından dūřuk içerikli gıdalarda besleyici bileşen takviyesi olarak kullanılabilmektedir. Protein ilavesi olarak; sağlık alanında, eczacılık takviye ürünlerinde, enerji içeceklerinde, yaşlılık ürünlerinde, sporcuların beslenmesinde ve diyetlerde kullanıldıkları saptanmıştır.

Deniz rnleri insan diyetinin, insanlık tarihi kadar eski bir parçasıdır. Pekçok denizcilik ülkesinde deniz ürünleri insanların ana besin kaynağını oluşturmaktadır. Ülkemiz ve Türki cumhuriyetlerinde ise deniz kaynaklı ürünlerin tüketimi hedeflenen besin faydalarını sağlamaktan oldukça uzaktadır. Kişi başi tüketim yıllık 6,2 kg kadardır (TK, 2016). Denizel kaynaklı ürünleri tüketicilere iyi kalitede, hijyenik ve ekonomik şekilde ulaştırmak, fonksiyonel özelliklerini tüketicie aktarmak önemli bir konudur.

Balık işleme alanındaki artık ürünler değersiz görülmekte ve bu nedenle yanlış imha çalışmaları ile çevresel kirliliğe neden olmaktadır. Hidroliz işlemi ile bu ürünler kabul edilebilir forma dönüştürülerek pazarlanabilir hale getirilebilmektedir (Quaglia and Orban, 1987; Gildberg, 1993). Gıda sektöründe et üretimi yapan endüstriyel tesislerin çıkardığı yan ürünün ihtiva ettiği protein, yağsız et içerisinde bulunan proteinin 1/8 ini oluşturduğu belirtilmiştir. Laboratuvar ortamında kontrollü şartlarda proteinlerin fonksiyonel özellikleri enzimatik hidrolizle geliştirilebilmektedir.

Biyoteknolojideki son gelişmelerle, enzimlerin modifiye gıda ürünleri üretimi ve bu ürünlerle artık yönetimine katkısı saptanmıştır. Flavur enzim; protein hidrolizat üretiminde fonksiyonel özelliklerin iyileştirilmesinde kullanılan bir enzimdir. Hidroliz işlemi ile yan ürünlerde katma değer getirilerek endüstride uygun forma dönüşüm sağlanıp pazarlanabilmektedir. Bu sayede önemli miktarlarda ekonomik kayıp engellenebilmektedir. Elde edilen hidrolizatlar, lezzet arttırıcı, fonksiyonel bileşenler veya dūřuk protein içerikli gıdalarda beslenme

katkısı ve kuvvetlendirici olarak kullanılabilmektedir. Bu alandaki çalışmalar genellikle endüstriyel su ürünleri tesislerinin üretim sonrasında kalan ürünleriyle yapılmaktadır. Balık işleme tesisleri yan ürünleri içeriği başta protein ve balık yağı, kitin ve mineral bakımından zengin olması nedeni ile fizyolojik ve hücrel aktiviteyi etkileyen hammaddeler olarak son zamanlarda kullanılmaya başlanarak, yan ürün işleme sektörüne değer kazandırmıştır. Bu yan ürünlerin endüstriyel uygulamalarla, hayvan ve insan tüketimine sunulması önemli bir katma değer yaratacaktır (Benjakul and Morrissey, 1997; Kristinson and Rasco, 2000; Sathivel et al., 2003).

Bu bağlamda, protein hidrolizatının fonksiyonel ve antioksidatif özelliklerini belirlemek üzere protein çözünürlüğü, emülsiyon özellikleri, köpürme özellikleri, renk özellikleri, su tutma kapasitesi (WHC), DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) serbest radikal süpürücü etki, antioksidatif aktivite tespiti ve metal şelatlama analizleri yapılmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında da “Türkiye’de kültüre edilen çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıklarının fileto edilmesi sonucunda ortaya çıkan artıklarından Flavur enzim ve Alkalaz enzimi yardımıyla; protein hidrolizat eldesi ve elde edilen ürünlerin bazı fonksiyonel ve antioksidant özelliklerinin tespit edilmesi ve dondurarak depolama süresindeki kararlılığının belirlenmesi” hedeflenmiştir. Ayrıca bu tez çalışması kapsamında üretilen protein hidrolizatlarının fonksiyonel ve antioksidant özellikleri ve dondurarak depolamadaki kararlılığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak ülkemizin önemli türleri olan çipura ve levrek balıklarının fileto edilmesi sırasında artık olarak ortaya çıkan bölgelerinden hidrolizat üretilerek, fonksiyonel ve antioksidant özellikleri ve üretilen protein hidrolizatların dondurarak depolamadaki kararlılığı tespit edilmiştir. Konu ile ilgili literatürler incelendiğinde; çipura ve levrekten proteinlerin kazanımı, fonksiyonel ve antioksidant özellikleri ve bu özelliklerinin dondurarak depolama süresindeki kararlılığı ile ilgili bir çalışmanın olmadığı görülmüştür. Tez çalışması sonuçları; çipura, levrek ve diğer türlerin işlemlerini yapan ve işleme yan ürünleri ortaya çıkaran tesislerde de benzer çalışmalar üretilmesine öncülük edecektir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Genellikle “balıkçılık yan ürünleri terimine” taze tüketimi sağlanamayan ve üretimde kullanılmayan kısım olarak bakılmıştır. Üretimden sonra ortaya çıkan “Yan ürün” terimi ise; üretimde devamı getirilebilir, kullanılabilir pozitif bir yaklaşımı belirtir. Zamanımızda yaygın kullanıma bakıldığında yan ürün; son kullanıcı için yapılan üretim sürecince ortaya çıkan, tüketimi sağlanan ve kullanılmayan hammaddenin tamamıdır. Örnek olarak balık filetosu işleminde; ticari değere sahip et alındığında geriye kalan omurga, kafa, kuyruk ve iç organlar yan üründür. Yan ürün şeklinde tanımını yaptığımız tüm ürünleri arda kalan, işlenmesinden geriye kalan, çöpe atılmayan ürün olarak ‘artık’ sözcüğü ile nitelendirilir.

Deniz ürünlerinin insan fizyolojisindeki görevleri, protein depolama, açlık hissini unutturma, esansiyel yağ asidi kaynağı oluşturma, buna ek olarak değişik tat ve lezzet ihtiyaçlarını tatmin etmektir. Denizel kaynaklı ürünler son zamanlarda ekonomik anlamda değer kazanan ‘fonksiyonel gıda ve gıda zenginleştirilmesi’ kavramlarının ana unsuru olmaktadır. Buna göre, bir gıdanın fonksiyonel olarak ifade edilebilmesi için ‘destekleyici etkisinin yanında sağlığı koruyucu, düzenleyici veya hastalık riskini en aza indirecek etki göstermesi, bu etkinin tıbbi ve bilimsel açıdan kanıtlanması’ gerekmektedir (Ekşi, 2005).

Gıda sektöründeki üretim boyunca her alanda yan ürün ortaya çıkar. Deniz ürünleri endüstrisinde yan ürünlerden fayda sağlama, ekonomik açıdan getirisine bakıldığında diğer gıda işleme sektörlerinden oldukça avantajlı olduğu belirtilmektedir. Balıkçılık kökenli yan ürünler toplam avın büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Kimi zaman farklı işlemler ile kimyasal yapının değişikliklere uğratıldığı ve teknoloji kullanılarak yapılan işleme sonucu ürünler esas üründen ekonomik açıdan çok daha değerli olabilmektedir.

Yapılan çalışmalarda balıkçılık ve kültür balıkçılığı sektörlerinden elde edilen yan ürünlerden yararlanmaya, çeşitli açılardan değinilmektedir. Gıda amaçlı olarak kullanılan yan ürünlerden daha kapsamlı yararlanarak, kârı arttırma olasılıkları tartışılır. Özel olarak ilaç üretimi ve biyokimyasal uygulamalar için

yüksek değerli biyokimyasal bileşiklerin üretiminde kullanılacak ham materyal olabilecek, bazı yan ürünlerle ilgili moleküler yapılarından bahsedilmektedir.

Ülkemizde su ürünleri üretimi, bilinçli beslenme talebindeki artış ile beraber paralel şekilde artış göstermiştir. Bununla birlikte su ürünleri tesisleri ve üretim sonucu ortaya çıkan artıkların miktarında önemli oranlarda artış mevcuttur. Balık işleme tesislerinde, yüksek miktarlarda gıda artığı oluşmakta ve artıkların büyük kısmı çeşitli metotlar kullanılarak balık unu, balık silajı gibi ekonomik değeri daha az olan ürünlere dönüştürülmekte ya da çöpe atılmaktadır. Pek çok gıda atığı ile kıyaslandığında su ürünleri artıkları, oldukça yüksek ve zengin içeriğe sahip olup önemli oranda geri dönüşüm potansiyeli olan ürünlerdir.

Gıdanın işlenmesi ile ortaya çıkan artıkların iyi şekilde değerlendirilmesi, çevresel artık birikiminin önlenmesi, ürün değerinin zenginleşmesi ve sektörel çeşitliliğin artması konusunda mühim bir yere sahiptir.

Gıda üretiminde su ürünleri ülkemizde oldukça yüksek miktarlarda maddi kazanç sağlamaktadır. Türkiye de yılda ortalama 500 bin ton ürün piyasaya sunulmaktadır, ürünler yoğun olarak işlenmiş ya da taze şekilde tüketilmektedir. Üretim esnasında, canlı türüne göre değişen, ekonomik olmayan, %50-60 oranlarında artıklar oluşmaktadır ve ıskarta türlerde kabuk, iç organ, pul, kan, kuyruk, omurgalar da bu artıkları oluşturmaktadır.

Son 20 yıl içerisinde su ürünleri ve işlenmiş su ürünleri talebi sağlıklı beslenme kavramıyla artış göstermiştir. Bununla beraber artan fabrika sayıları ile birlikte artık miktarı da paralel şekilde artmıştır. Bunun sonucunda çevre kirliliği, oluşan kokular, insan sağlığı üzerine etkileri, taşınım, tepki oluşması gibi durumlar işletmeler ve ülke ekonomisi üzerinde ciddi bir yük oluşturmaktadır ve bu durumun iyi değerlendirilmesi ekonomik açıdan arz ve talebi olumlu etkilemektedir (Çolakoglu ve Künili, 2016).

Balıkçılık yan ürünlerinden biyoaktif bileşikler üretilmesi ile ilgili çalışmalar özellikle literatür incelendiğinde 2000 yılından sonra artarak, günümüzde de önemle devam etmektedir. Fakat bu konuda, Türkiye’de balıkçılık yan ürünlerinde

yapılan herhangi bir çalışma günümüze değin yapılmamıştır. Konu ile ilgili literatür aşağıda özetlenmiştir;

Imm and Lee, (1999), protein hidrolizatını doğal lezzet stoğu olan ‘Urophycis chuss’ den ticari enzimler kullanarak tespit etmişlerdir. Flavur enzim ve Savorase, balığın doğal pH sı olan 6.8 de ve su/balık oranı 2:5 olarak ayarlanmıştır. %1.5 NaCl ve %0.4 STPP ilavesinin hidrolizatın lezzet kalitesini geliştirdiği ve acılığı maskeleyiği bildirilmiştir. En yüksek kabul edilebilirlik derecesi, Flavur enzim ilave edilmiş baş ve iç organları alınmış kıymanın 6 saat hidrolizatında tespit edilmiştir. Hidrolizin Arginin ve Histidin dışında çoğu serbest amino asit konsantrasyonunu artırdığı bildirilmiştir. Hidrolizatta Lösin, Lizin, ve Arginin’ nin predominant serbest amino asitler olduğunu bildirmişlerdir. Umami lezzetten sorumlu Glu konsantrasyonunun, hidrolize bağlı olarak 6-9 kat artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

İşlem gördükten sonra proteince zengin, büyük miktarlardaki yan ürünler geri kazanım için hiçbir şey yapılmadan atılmaktadır. Aynı zamanda, birçok üretici ham maddelerinin kullanılmayan bölümlerini direk okyanusa bırakmaktadır; bunun sonucu olarak kirliliğin temizlenmesi de büyük maliyetlere yol açmaktadır. Su ürünleri işleme endüstrisinin ihtiyaçları göz önüne alınırsa, bu yan ürünlerin ıskartaya çıkartılmaması için bir alternatif geliştirilmelidir. Balık kası proteinlerinin geri kazanımı ve başkalaştırılması yan ürün materyallerinden yapılır ve bunların gıda sistemi içinde fonksiyonel katkı maddesi olarak kullanımı, heyecanlandırıcı ve umut verici bir alternatiftir. Bununla beraber, yan ürünlerin geri kazanımı ve kullanılabilirliğinin endüstri için gelişimi, yan ürünlerin ıskartaya çıkartılmasından daha ekonomik ve fizibilitesi yüksektir. Her yıl 91 milyon ton balık avlanmaktadır, bunların %29,5’i gıda olarak tüketilmektedir (FAO,2015). Geriye kalan balık dokularının %50’den fazlası işleme için dikkate alınanlar; atıklar ve gıda için kullanılmayanlardır. Hızlı bir şekilde dünyanın nüfusu artmakta ve dünyada balık avı için önerilen miktar 100 milyon ton/yıl üzerindedir; bu nedenle deniz kaynaklarının daha akıllıca ve sürdürülebilir şekilde kullanılması ile faydalanma arttırılmalıdır. Balık işleminde balık proteinlerinin geri kazanımı için enzim teknolojisi uygulanarak, gıda içerikleri ya da endüstriyel üretimlerin geniş spektrumda üretimi yapılabilir. Bu, balıkçılık yan ürünlerinden ve ikincil

hammaddelerden yararlanmayı ve ek olarak kullanılmayan türlerin ve atıkların kullanılabilmesini sağlayabilecektir. Spesifik peptit bağlarının açılması için seçilmiş proteolitik enzimler kullanılması; proteinlerin enzimatik modifikasyonları gıda endüstrisinde geniş ölçüde kullanılmaktadır. Gıda proteinlerinin hidrolizi uzun bir geçmişe sahiptir, özellikle sebzeler ve süt proteinleri için; bu proteinler gıda endüstrisinde geniş bir kullanıma sahiptirler. Balık proteinlerinin hidrolizi üzerine birçok çalışma 1960'lı yıllarda yönetilmiştir. Bazı balık proteini hidrolizatları o zamanlarda başarılı bir şekilde hazırlanmıştır. 1960'lardaki çalışmalar hızlı büyüyen ve gelişen ülkelerin ucuz besleyici protein kaynağı ya da hayvansal gıda üretimi, daha çokta balık proteini konsantresi yönünde geliştirilmiştir. Çok az bir çalışma son zamanlarda balık protein hidrolizatı üzerine yapılmaktadır fakat bazı çalışmalar gıda formülasyonlarında toz hidrolizatların kullanımı üzerinedir. Birçok çalışma da balık protein hidrolizatının mükemmel fonksiyonel özelliklerinin olduğunu rapor edilmiştir. Bununla beraber, tat kusurları, özellikle acılık ve üretim ekonomisi balık proteini hidrolizatı uygulamalarının kısıtlayıcı faktörleridir (Kristinsson and Rasco, 2000).

Konserve endüstrisinin artık ürünleri; ticari proteaz 'umamizyme' kullanılarak hidrolize edilmiştir. Enzimatik hidroliz reaktör içinde pH 7 ve 45°C de incelenmiştir. Proteolitik indirgenmenin uzatılması, azotun salınımı ve peptitlerin moleküler ağırlık dağılımları dikkate alınarak, işlem çeşitliliğinde enzim/protein substrat oranının %0.1 den %1.5 (w/w) aralığındaki etkisi incelenmiştir. Enzim/substrat oranının %1.5 uygulamasında 4 saat sonunda, hidroliz derecesi %22.5 olarak tespit edilmiştir. Azot kazanımı ve hidroliz derecesiyle doğrusal bir korelasyon tespit edilmiştir. Ara substrat ve enzim ilavesinin yapıldığı çalışmada, hidrolizde sınırlayıcı faktör 45 °C ve pH 7 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda ton balığı atıklarının çözünürlüğünde 'Umamizyme' proteazı 'Alkalaz' kadar etkili performans göstermiştir. Ancak 'Umamizyme' dayanıklılığı 'Alkalaz' dan daha düşük tespit edilmiştir (Guerard et al., 2002).

Balık protein hidrolizatını (FPH) Flavur enzim ve Kojizyme™ kullanarak, konserve balık endüstrisinin yan ürünlerinden üretmişlerdir. Hidrolizat derecelendirmesini (DH) sıcaklık (T), zaman (t), ve enzim konsantrasyonlarına göre (E) ayarlamışlardır. Flavur enzim konsantrasyonu için uygun değer, substrat

konsantrasyonu, sıcaklık ve hidroliz zamanı sırasıyla 50LAPU/g protein, %20 (w/w), 45°C ve 6h, olarak tespit edilmiştir. (LAPU; Leucine Aminopeptidase Unit). Bu değerler Kojizyme için sırasıyla 40LAPU/g protein, %20 (w/w), 50°C ve 6 saat, olarak tespit edilmiştir. Hidroliz esnasında Kojizyme acı bir lezzet geliştirirken Flavur enzim de böyle bir etki gözlenmemiştir. Flavur enzim ilave edilmiş ve sprey kurutucu ile kurutulmuş balık protein hidrolizatlarının daha yüksek protein miktarı (%66) içerdiği bildirilmiştir (Nilsang et al, 2005).

Balık protein hidrolizatlarından elde edilen biyoaktif peptitler, yüksek tansiyon önleme, pıhtılaşmayı önleme, bağışıklık destekleyici ve antioksidan etkinlikleri gibi çeşitli biyoaktiviteler gösterirler. Balık kökenli bazı peptitler, farklı pek çok doğal peptitden daha güçlü olması nedeniyle angiotensin 1 converting enziminin (ACE) hareketini engelleyici anti-hipertansiyon etkiler gösterir. Bu peptitler, doğal olarak hipertansiyon olan vakalarda, kan basıncı düşürülerek in vivo ortamda etkinlikleri sergilenmiştir. Enzimatik hidrolize edilen balık kası proteinleri, in vitro ortamda test edilen pıhtılaşmayı önleyici ve pıhtı atımını önleyici özellikleri de görülmüş, bu sonuçlar pıhtılaşmanın iç yolunda pıhtılaşma etkenlerinin engellemek için; balık peptitlerinin yararlılığını önermiştir. Belirli gıdaların alımında duyarlılık gösteren bebek ve küçük çocukların beslenmesinde proteince zengin hidrolizat yaygın kullanım alanına sahiptir, özellikle bebek mamalarında takviye ve gıdanın zenginleştirilmesinde kullanılmaktadır. Di-, tri- peptitler gibi molekül ağırlığı düşük peptitce zengin protein hidrolizatı, serbest aminoasitler gibi besleyici ve tedavi edici özelliğe sahiptir. Protein hidrolizlerinin bir çok özelliği başlangıçtaki materyalin özelliğine bağlıdır. Balık protein kökenli peptitler, farklı oksidatif sistemlerde güçlü antioksidan etkinlikleri göstermiştir. Kalsiyum bileşenlerinin çözünürlüğü arttırmak için yöntem geliştirme, biyolojik sistemlerde kalsiyum elde edilmesini önemli oranda artırır (Kim and Mendis, 2006).

Toz protein hidrolizatı için en sık kullanılan ham materyaller; ucuz hedef dışı balıklar, diğer yan ürünler ve hamsi, sardalya gibi küçük pelajik türlerdir. İşleme atıkları, hidrolizat üretiminde hidroliz hızından dolayı önemlidir. Kullanılan enzimler; ya bitkisel ya da mikrobiyal orijinli ticari enzimler, endojen enzimler ya da ham materyale mikrobiyal kültür ilavesi ile oluşturulan enzimlerdir. Hidroliz

işleminde proteolitik enzimler, nihai üründe besin ve duyuşal açıdan en iyi sunuşları vermektedir. (Aylangan ve Öztan, 2008).

Çeşitli proteazlar ile işlenmiş sardalyanın kafaları ve iç organlarından hazırlanan protein hidrolizatlarının, angiotensin I-dönüştürücü enzimin (ACE) engelleyici etkinlikleri araştırılmıştır. Protein hidrolizatları, Alcalese, chymotrypsin, *Bacillus licheniformis* NH1 ve *Aspergillus clavatus* ES1 kökenli saf enzim ve sardalya (*Sardinella aurita*) iç organlarından saf enzim ekstratı ile işlenerek elde edilmiştir. Tüm hidrolizatlar ACE'ye karşı engelleyici etkinliğı sergilemiştir. Sardalya iç organlarından ekstrakte edilmiş alkalın proteazı, en yüksek ACE engelliyici etkili (%63,2±1,5 2mg/ml) hidrolizat üretmiştir. Dahası, hidroliz derecesi ve ACE engelleyici etkinlikleri, artan proteoliz zamanı ile artmıştır. Sardalya iç organlarından alkali proteazlar ile üretilmiş protein hidrolizatı, sekiz büyük kısım (P1-P8) içinde Sephadex G-25 üzerinde boy ayırma kromatografisi yoluyla ayrılmıştır. Tüm kesimlerin biyolojik işlevleri analiz edilmiş ve P4 yüksek ACE engelleyici etkinliğı gösterdiği bulunmuştur. Sardalya yan ürünü protein hidrolizatları ve kısım P4 ACE engelleyici etkinlikleri için IC50 değeri sırasıyla 1,2±0,09 ve 0,81±0,013 mg/ml'dir. Ayrıca, P4 gastrointestinal proteazlar tarafından in vitro ortamda sindirmek için direnç göstermiştir. GC/MS yoluyla amino asit analizi, P4 için phenylalanine, arginine, glycine, leucine, methionine, histidine ve tyrosine yönünden zengin olduğunu göstermiştir. Bougateg et al, (2008), sardalya yan ürününün değeri lenmesi sardalyadan iç organ serine proteazları ile enzimatik işlemlerle iyileştirilebilir. Yüksek tansiyon koroner kalp hastalığının etkisi ile ilişkilidir. Angiotensin I-dönüştürücü enzimi kan basıncını düzenlemede önemli fizyolojik rol oynar. ACE, etkisiz decapeptit angiotensin-I etkili damar büzücü olan angiotensin-II'ye (oktapeptit) dönüştürerek kan basıncı arttırılabilir. ACE, bradykinin (damar açıcı nonapeptit) azalmasını da katalize eden çok işlevli bir enzimdir. Bu yüzden, angiotensin-II etkinliğini azalttığı ve bradykinin seviyesini arttırdığı için, ACE etkinliğinin engellenmesi yüksek tansiyon tedavisinde yararlı bir tedavi yaklaşımı olduğu dikkate alınmalıdır. Birkaç adet etkili oral ACE engelleyicisi, captopril, enalapril ve lasinopril olarak adlandırılan geliştirilmiş ve tümü hali hazırda yüksek tansiyon ilaçları olarak kullanılır. Sentetik ACE engelleyicileri yüksek tansiyon ilaçları olarak yaralı bile olsa, öksürme, alerjik reaksiyonlar, tat bozukluğu ve deri döküntüsü gibi ters yan

etkilere neden olurlar. Yılan zehrinde ACE engelleyicileri keşfedildiğinden beri, birkaç makale kasein, kolza, mantar, peynir altı suyu proteini, domuz ve tavuk kası, dana deri jelatini, soya fasülyesi, sake ve sake posası ile balık proteinleri gibi gıda proteinlerinden gelen peptitlerin ACE engelleme etkinliği hakkında yayınlanmıştır. Çeşitli proteolitik hazırlamalar ile işlenerek elde edilen sardalya yan ürünü hidrolizatları, ACE engelleme etkinlikleri için analiz edilmişlerdir. İşlenmemiş sardalya yan ürün proteinleri düşük ACE engelleme etkinliği (%3) göstermiştir. Sardalya yan ürün proteinlerinin proteazlar yoluyla sindirildiği zaman, hidrolizatların ACE engelleme etkinliği önemli derecede arttığı bildirilmektedir. Beş proteolitik hazırlık arasında, sardalya iç organlarından ekstrakte edilen saf enzim ile sardalya hidrolizi en yüksek ACE engelleyici etkinliği ile hidrolizatın üretimini sonuçlandırmıştır. Sardalya yan ürünleri kökenli ACE engelleyicileri yüksek tansiyonun önlemek için işlevsel gıdaları geliştirmek için kullanılabileceği bildirilmektedir (Shahidi, 2009). .

İşlevsel gıdalar, nutrasötikler ve diğer doğal sağlık ürünlerinin önemi sağlığı destekleme, hastalık riskini azaltma ve sağlık hizmetleri masraflarını düşürmeyle ilgili olarak iyi tanımlanmıştır. Yan ürünler çoğu kez sağlığa yararlı etkiler ile bileşenlerin yoğun bir kaynağı olarak hizmet sağlar. Deniz algleri; protein, uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), diet lifleri, vitaminler ve minerallerin içinde bulunduğu iyi besin kaynakları olarak özel ilgi çekmiştir. Birçok araştırma, çoğunlukla $\omega 3$ yağ asitleri, antioksidanları ve diğer biyoaktiflerine bağlanmış potansiyel sağlık desteği için nutrasötikler ve işlevsel gıdalar olarak deniz algleri ve bileşenlerine odaklanmıştır. Ürünlerdeki mevcut bu ve diğer biyoaktif maddeler, kardiyoasküler hastalıklar ve kanser gibi diyet ve yaşla ilişkili çeşitli hastalıkların riskini azaltma da etkili bulunur. Sağlık durumu üzerinde besin etkilerinin önemi ilk çağlardan beri fark edilmiştir. Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar, insan sağlığı üzerinde gıda biyoaktif etkilerinin kimyasal ve fizyolojik mekanizmaları açmak için kökten yaklaşımlar sağlar. Bu arada teknolojiler, sağlığı destekleme ve hastalığı önlemede gıda etkinliğinden sorumlu olan gıdalarda biyolojik olarak etkin bileşenleri izole etmek, saflaştırmak ve tespit etmek, nitelemek için geliştirilmişlerdir. İşlevsel gıdaların ve nutrasötiklerin sağlığa yararları genellikle, kardiyovasküler hastalıkları önleme ve tedavisi, çeşitli kanser tipleri, diyabet ve iltihaplanma ile bağışıklık sistemini geliştirme, yaşlanma sürecini geciktirme ve

sağlıklı şekilde sürdürülecek ömürde odaklanmaktadır. Bitki ya da hayvan kökenli biyoaktif maddelerin çeşitliliği, potansiyel işlevsel ve fizyolojik özellikleri için araştırılmıştır. Temelde fenolik bileşenler olan fitokimyasallar, antioksidanlar gibi davranmaya ilaveten hücre farklılaşması ile ilişkin diğer mekanizmalar, prokanserojenlerin etkisizleştirilmesi, DNA tamiri, N-nitrosamine oluşumunun önlenmesi ve östrojen metabolizmasının değişimi yoluyla diğerleri arasında gıda kaynaklı biyoaktiflerin önemli bir sınıfıdır. Hormon benzeri etkinlikleri ile bazı peptitler, metabolizma ayarlama ve değişiminde önemli rol oynarlar. Ayrıca, deniz kaynaklı $\omega 3$ yağları bir dizi hastalıkların tedavisinde ve sağlık koşullarında etkilidir. Gıda biyoaktifleri çoğu kez sağlığı desteklemede ve hastalık riskini azaltmaya yol açmasıyla etkilidir. Ayrıca, deniz kaynaklı nutrasötikler sağlık destekleyici bileşenlerin zengin bir kaynağı olarak hizmet eder. Bunların aralarında, $\omega 3$ yağ asitleri triacylglycerollerini azaltmayı ve ritim bozukluğunun etkilerini düşürmenin içinde olduğu birçok sağlık koşullarında çok etkili oldukları kanıtlanmıştır (Shahidi, 2009).

2.1. Su Ürünleri Artıkları

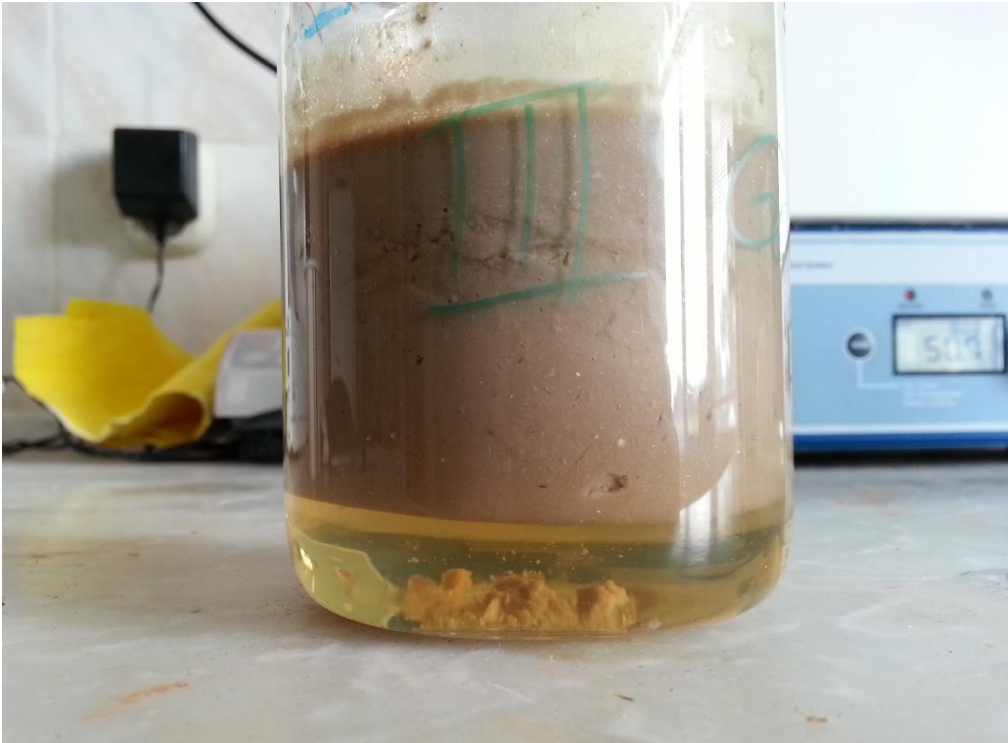
Su ürünleri işleme artıkları önemli oranlarda protein ihtiva etmekte olup ayrıca bünyesinde vitamin, mineral ve değerli yağ asitlerini de barındırmaktadır. Artıkların farklı yöntemler ile; gıda ürünleri, ecza, kozmetik, yem sanayi ve çeşitli endüstriyel alanlarda kullanımı mevcuttur, zaman geçtikçe ambalaj sektörü, süs eşyası, kimyasal ürün sektöründe yeni uygulamalar ile görünecektir. Hali hazırda balık yağı, protein hidrolizatu, kollajen, jelatin, kitin ve kitosan bu ürünlerden sayılabilir (Taylor and Alasalvar, 2002).

Dünyadaki av miktarı gelecekte umulduğu gibi gelişmediğinden, balıkçılık yan ürünlerindeki her artış potansiyelinin; akuakültür üretiminin gelişiminden meydana geleceği düşünülmektedir. FAO'ya göre Çin'de her yıl yaklaşık %25 oranında akuakültür üretimde gelişim ve dünyanın geri kalanında bu oranın %5 oranında bir gelişim beklenmektedir. Bu şu anlama gelir ki; global akuakültür üretimi 2015 yılı itibariyle 55 milyon tona varacaktır. Akuakültür üretiminin yaklaşık %25'i yan ürünlerdir. Bu sektördeki global yan ürün miktarı 2015 yılında mevcut yaklaşık 8 milyon tondan, yaklaşık 14 milyon tona ulaşacaktır. Denizcilik

yan ürünlerinin büyük kısmı, yarı mamül balık yağı, balık unu, gıda küspesi, hayvan yemi ve balık silajı üretmek için mevcut durumda kullanılır. Fakat bu ürünlerin geneli pazarda ekonomik bakımlardan düşük değere sahiptir. Arta kalan balık kası proteinleri, kollajen ve jelatin, balık yağı, balık kemiği, iç organlar ve yumuşakça ve kabuklu kabuklarından bir dizi biyoaktif bileşenler tanımlanmıştır. En yüksek karlılık şu an biyoaktif bileşenlerden umulur. Bu metabolitler farklı metotlar ile elde edilebilir ve saflaştırılabilir. Bu yüzden, su ürünleri işleme yan ürünlerinden gelen yeni biyoaktif bileşenleri araştırmada yeni teknolojilerin gelişimi, bir atıktan daha fazla değer getirecek ve su ürünleri yan ürün sanayinde yeni fırsatlar sunacaktır (Çaklı, 2008).

2.1.1. Balık unu ve balık yağı

Balık unu, katma değeri bulunmayan ıskarta ve taze tüketimi sağlanamayan deniz ürünleri ve işleme sonucu ortaya çıkan artıklardan sağlanmaktadır. Üretim materyalinin preslenerek yağ ve suyun ayrılması sağlanır. Kurumaya bırakılıp özü arındırılarak son şekli olan balık unu haline getirilir. Balık unu üretimi esnasında ortaya çıkan yağ ise hammadde olarak balık yağı üretiminde ham materyal olarak kullanılır (Hardy and Tacon, 2002).



Şekil 1.1: Hidroliz işlemi sırasında görülen balık yağı ve diğer ürünler (Şubat 2014, Orijinal).

Balık unu, amino asit içeriği oldukça yüksek ve besin değeri zengin olduğundan, besi hayvanları ve kanatlı yetiştiriciliğinde protein esaslı yem üretiminde sıkça kullanılmaktadır. (Tacon and Metian, 2008).

Hidroliz işlemi sırasında önemli miktarlarda balık yağı ortaya çıkmaktadır. Bu işlemler gerçekleştirilirken gerekli yöntemler ile ham balık yağı eldesi mümkündür.

Balık yağı, özellikle esansiyel yağ asitlerini (EFA) ve yüksek oranda doymamış yağ asitleri (UFA) içeriğine sahip yüksek değerde bir enerji kaynağıdır. Fosfor, magnezyum, kalsiyum gibi mineralleri de ihtiva eder. Uzmanlar tarafından yapılan araştırmalar sonucunda; su ürünleri ham maddeli omega-3 yağ asitleri; tansiyon, kanser, kardiyovasküler sistem hastalıklar, immün sistem kaynaklı rahatsızlıklarda koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır. Omega-3 yağ asitleri ile zenginleştirilen fonksiyonel ürünlerin, beslenme takviyeleri, fonksiyonel gıda, bebek mamaları ve meşrubatlarda gıda destek ürünü olarak kullanıldığı da belirtilmiştir (Guillaume et al., 2001; Rustad, 2003; Strobel et al., 2012).

2.1.2. Balık silajı

Balık silajı, ekonomik değerlemesi yapılamayan balık artıklarının hammaddeye asit eklenerek, içeriğindeki enzim aktivitesi sayesinde ürünün sıvılaşması esasına dayanan katma değerli bir üründür. Uzun yıllardır kullanılan bu ürünün üretimi ucuz ve üretim yöntemi bakımından oldukça kolaydır. Silaj üretiminde çeşitli yöntemler kullanılmakla birlikte ucuz olduğu için yaygın olarak asit hidrolizi yöntemi görülmektedir. (Lovell, 1978; Raa et al., 1983; Tatterson, 1982 Vidotti et al., 2003).

Balık silajı besicilikte balık unu gibi zengin protein desteği için kullanılmaktadır. Besicilik ve yem endüstrisinde kullanımı, balık ununa kıyasla verim bakımından düşük olduğundan daha azdır. Özellikle Norveç gibi İskandinav ülkelerinde önemli oranlarda silaj üretimi yapılmaktadır. Norveç'te büyük kısmı işleme yan ürünlerinden oluşmak üzere, yılda yaklaşık 140 bin ton civarında balık

silajı üretimi yapılmaktadır. Balık silajı balık unu ile kıyaslandığında daha ucuz olması nedeniyle kanatlı ve büyük baş hayvan üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Borghesi et al., 2008; Goddard and Perret, 2005; Hevrøy et al., Mol, 2004; 2005; Rustad, 2003).

2.1.3. Enzimler

Denizel kaynaklı enzimler, ekonomik değeri düşük, ıskarta balıklar, işleme artıkları ve mikroorganizmalarından, kromatografik metotlar ile elde edilmektedir. Özellikle enzim değeri bakımından yüksek değere sahip balık iç organları, özellikle pepsin ve tripsin, kollajen içeren proteaz enzimleri ticari üretiminde kullanılmaktadır (Aylangan ve Öztan, 2008; Taylor and Alasalvar, 2002).

Denizel kaynaklı enzim çeşitleri gıda sektöründe; düşük sıcaklıklarda peynir üretimi, sütteki okside tadın düzeltilmesi, mikrobiyal kontaminasyon kontrolü, peynir acılığının giderilmesi, protein hidrolizataı üretimi, inek sütünün bebekler için modifikasyonu, kolajen uzaklaştırma ve meyva suyu arındırma gibi alanlarda kullanılmaktadır. Su ürünlerinin işlendiği sektörde, havyarda doku uzaklaştırmada, fileto işleminde derinin kolay çıkarılmasında ve fermente balık soslarında kullanılmaktadır.

Bu amaçlar doğrultusunda en çok kullanılan enzimler; psikrofilik morina pepsini, psikrofilik morina tripsini, kabuklu lizozimleri, kalamar pepdidazları, tripsinler, lizozim, pepsin ve tripsin olarak belirlenmiştir.

2.1.4. Kolajen ve jelatin

Kolajen maddesi balık omurgası ve derisinin temel proteindir. Kolajenin hidrolizasyonu ile pek çok fonksiyonel üründe kullanılan jelatin maddesi elde edilmektedir (Grosman and Bergman, 1992; Karim and Bhat, 2009).

Önceden büyük baş ve diğer besi hayvanlarından elde edilen jelatin son zamanlarda su ürünleri ve işleme artıklarından yüksek miktarlarda üretilmiştir. Bununla birlikte, deniz kaynaklı artıkların % 49-52 gibi yüksek kolajen içeriği ve karasal hayvanlara kıyasla yüksek kalitede üretimi sağlandığı için tercih sebebi

olmuştur. (Badii and Howell, 2006; Jamillah and Harvinder, 2002; Karim and Bhat, 2009; Nagai and Suzuki, 2000).

Kıvam artırıcı olarak gıda endüstrisinde oldukça yoğun şekilde kullanılan jelatinin, ecza sanayi ve fotoğrafçılık alanında kullanılan fonksiyonel açıdan değerli kullanımının olduğu belirtilmiştir. Gıda sektöründe duyuusal isteği, dokuyu, su tutma kapasitesini sağlamak, ecza sanayisinde kolay şekillendirilebilir ve sindirilebilir olması nedeni ile kapsüllü tablet üretiminde kullanılır. Denizel kaynaklı jelatin ürünleri; tutkal, kozmetik sanayide şampuan vb. yapımında da kullanılmaktadır (Borderias et al., 1994; Rustad, 2003).

Çoğu kez “balıkçılık yan ürünleri terimine” balığın yenilemeyen kısımları gözüyle bakılsa da “yan ürün” terimi; yararlanılabilir, kullanılabilir pozitif bir kavramı ifade eder. Günümüzde birçok yaygın görüşe göre yan ürün terimi; esas ürünün hazırlanması süresince çıkarılan, yenebilir ve yenmez ham materyalin tümüdür. Bu balık filetosu üretimi ile örneklendirildiğinde; fileto kesildiğinde çıkan omurga, baş, karaciğer, gonadlar ve bağırsakların tümü yan ürün olarak değerlendirilebilir.

Balıkçılık sektöründe yan ürünlerden yararlanma, ekonomik kazanç açısından diğer birçok sektörden daha önemlidir. Balıkçılık yan ürünleri toplam avın oldukça önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Bazı durumlarda işlemden geçirilip, fiziksel, kimyasal değişikliklerle daha uygun, kullanılır duruma getirilmiş ana üründen çok daha değerli olabilmektedir. Yapılan çalışmalarda kültür balıkçılığında elde edilen yan ürünlerden yararlanmaya, çeşitli açılardan değinilmektedir. Gıda amaçlı olarak kullanılan yan ürünlerden daha kapsamlı yararlanarak, kârı arttırma olasılıkları tartışılır. Özel olarak ilaç üretimi ve biyokimyasal uygulamalar için yüksek değerli biyokimyasal bileşiklerin üretiminde kullanılacak ham materyal olabilecek, bazı yan ürünlerle ilgili moleküller yapılarından bahsedilmektedir.

Dünyadaki toplam balık üretimi son yıllarda 130–140 milyon ton olarak belirtilmiştir. Balık üretiminin büyük bir oranı; balık unu ve yağı olarak işlenir. Bu materyalin büyük bir miktarı, üretim sırasında çıkan yan ürünlerdir. Dünya

genelinde yan ürün toplam miktarını saptamak oldukça zor olsa da, karaya çıkarılan balık miktarına oranla 25 milyon ton civarında olduğu düşünülmektedir. Bununla beraber yaklaşık olarak 20 milyon ton ıskarta deniz ürünü tekrardan denizlere atılmakta, bu sebeple yan ürün toplamı 45 milyon ton dolaylarında belirlenmektedir (FAO, 2015).

Balıkçılık yan ürünlerinden biyoaktif bileşikler üretilmesi ile ilgili çalışmalar özellikle literatürler incelendiğinde 2000 yılından sonra artarak, günümüzde de önemle devam etmektedir. Fakat Türkiye’de yüksek değerli balıkçılık yan ürünlerinde yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Birçok çalışmada balık protein hidrolizatının mükemmel fonksiyonel özelliklerinin olduğu rapor edilmiştir. Bununla beraber, tat kusurları, özellikle acılık ve üretim ekonomisi balık proteini hidrolizatı uygulamalarının kısıtlatıcı faktörleridir (Kristinsson and Rasco, 2000).

2.1.5. Protein hidrolizatları

Protein bakımından zengin içeriğe sahip hammateryalin, asit ve alkali yardımı ile peptit zincirine parçalanması ile elde edilen ürünlere protein hidrolizatı denilmektedir.

İşlenmiş ürünlerin ardından ortaya çıkan artıkların mevcut içeriğindeki proteolitik enzimlerin sonradan eklenen enzimler ile aktifleştirilmesi sonucunda sıvı forma dönüştürmesi temel işlemdir. Hidroliz işlemi sırasında kullanılan protein yıkıcı enzimler, nihai üründe besin içeriği açısından en kaliteli sonucu sunmaktadır, bu şekilde elde edilen ürünler; ticari besicilikte, deniz kaynaklı yetiştiricilikte ve hobi amaçlı yetiştirilen akvaryum canlıları için zengin protein içerikli yem yapımında kullanılmaktadır. (Clausen et al., 1985; Coello et al., 2002; Khan et al., 2003; Martone et al., 2005).

Protein hidrolizatları, fonksiyonel ve biyoaktif özellikleri nedeniyle özelliklerine göre endüstriyel üretim yapan gıda işleme tesislerinde ve benzeri alanlarda yoğun kullanıma sahiptir. Üretilen peptitler, öncelikle gıda alanında olmak üzere tıp ve kozmetik alanlarında biyoaktif ürün olarak kullanılmaktadır, di-

tri-peptitler gibi molekül ağırlığı düşük olan peptitlerce zengin olan protein hidrolizatlarının sahip olduğu yüksek besin içeriği ile pek çok hastalığı tedavi edici ve immün sistemi destekleyici değeri olduğu belirtilmektedir. Ticari anlamda hidrolizat ürünleri, işlenmiş deniz ürünlerinde, sosis, salam veya emülsifiye edilmiş et ürünlerinde, salata sosu gibi çeşitli ürünlerde yağ-su bağlayıcı olarak kullanıldığı belirtilmiştir. (Aylangan ve Öztan, 2008; Badal and Kiyoshi, 2001; Rustad, 2003; Shoji, 1990).

Hidroliz sayesinde ortaya çıkan ham protein oranı yaklaşık %80 civarında olup diğer et, süt gibi gıda maddelerinden elde edilen proteinden yüksektir.



3. MATERYAL METOD

3.1. Ham Materyal

Araştırma için kullanılan ham madde; Ege bölgesinde yetiştiriciliği yapılmakta olan, çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıklarından elde edildi. Hali hazırda derili ve derisiz fileto işlemesi yapan ticari işletmeden muhafazada biriktirilerek (0-4°C) ham materyal oluşturulmuştur. Balık kafa ve omurgaları plastik poşetler içinde gruplara ayrılarak işletmede dondurularak ve E.Ü. Su Ürünleri İşleme Laboratuvarına donuk halde getirilmiştir. Donmuş halde getirilen omurgalar üretim yapılacak miktara göre bir gece soğuk depoda (+4°C) 6 saat süre ile çözdürmeye bırakılmıştır ve çözdürülen örnekler Kitchen Aid marka parçalayıcı kullanılarak (2 kg/min; model KPM5, St. Joseph, Michigan, USA) parçalanıp üretim için hazırlanmıştır. Her bir grup için tek bir üretim yapılarak protein hidrolizatı elde edilmiştir. Her bir gruptaki analizler 3 paralelli olarak yapılmıştır.



Şekil 1.2: Ham materyal (Şubat 2014, Orijinal)



Şekil 1.3: Parçalama işlemi (Şubat 2014, Orijinal)

Toz proteini hidrolizatı, protein içeriği yüksek değere sahip deniz ürünlerinin enzim yardımı ile hidroliz edilmesinden oluşmuştur. Balık omurgaları kullanılarak protein hidrolizatları elde edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen hidrolizatlarda; hidroliz derecesinin ölçülmesi; fonksiyonel özelliklerin tespiti (protein çözünürlüğü, emülsiyon özellikleri, köpürme özellikleri, renk özellikleri, su tutma kapasitesi (WHC), antioksidant özellikler DPPH (1, 1-diphenyl - 2-picrylhydrazyl) serbest radikal giderme kapasitesi, metal şelatlama, antioksidatif aktivite tespiti) ve

amino asit diziliminin tanımlanması yapılmıştır. Üretimden sonra -18°C’ de depolamaya alınan balık protein hidrolizatlarında depolama süresinin etkisini değerlendirmek amacıyla; yukarıda açıklanan antioksidatif özellikleri kapsayan analizler 6 aylık depolama periyodu sonunda tekrarlanmıştır. Tüm bulgular istatistiksel analizler kullanılarak yorumlanmıştır.

3.2. Kullanılacak Kimyasallar ve Enzimler

Alcalase 2.4L ve Flavourzyme 500L Novo Nordisk, (Bagsvaerd, Denmark). DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), FeCl₂ (Iron (II) chloride), ferrozin (disodium 4-[3-pyridin-2-yl-6-(4-sulfonatophenyl)-1,2,4-triazin-5-yl] benzenesulfonate), TNBS (2,4,6-Trinitrobenzenesulfonic acid), NBT (Nitro blue tetrazolium chloride), Sigma–Aldrich, Inc. (St. Louis, MO, USA)

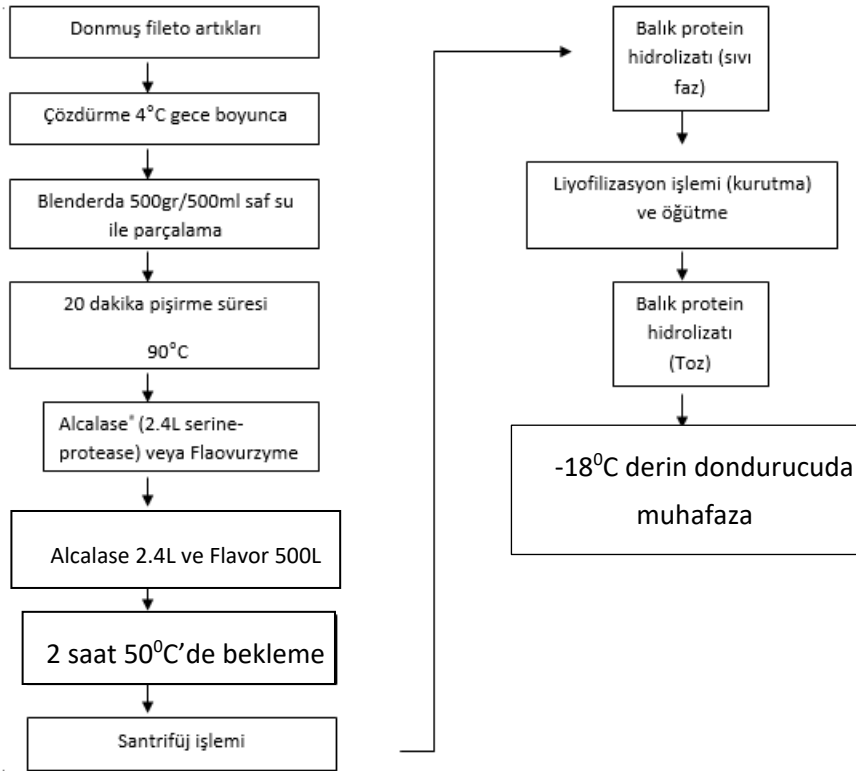
3.3. Üretim Metodu

3.3.1. Fileto artıklarından elde edilecek hidrolizat için uygulanacak metot

Balık artıkları (500g) 500 ml saf su eklenerek blendıra aktarılmış ve ilk parçalama işlemi Kitchen Aid marka parçalayıcı kullanılarak (2 kg/min; model KPM5, St. Joseph, Michigan, USA) gerçekleştirilmiştir (Bougatef et al., 2010). Akabinde 90°C’de 20 dakika süresince pişirilerek endojen enzimlerin inaktif hale geçmesi sağlanmıştır. Pişmiş olan başlar tekrar blendıra alınarak 2 dakika boyunca Kitchen Aid marka parçalayıcı kullanılarak (2 kg/min; model KPM5, St. Joseph, Michigan, USA) parçalanmıştır. Örnekler daha sonra kullanılacak enzim doğrultusunda en uygun pH ve sıcaklığa getirilmiştir. Kullanılan enzim Alkalaz 2.4L (*Bacillus licheniformis*) ve Flavur enzim 500L (*Aspergillus oryzae*)’dir. PH 8.0 ve dengeleme için 4N NaOH kullanılmıştır, sıcaklık 50°C olarak sabitlenmiştir. Hidroliz işlemi için ham materyal miktarının %0,1’i olarak hesaplanmış ve 50°C’da istikrarlı olan karışıma eklenmiştir; bekleme süresi 3 saattir.

Bekleme süresi sonunda enzim aktivitesinin durdurulması için elde edilen karışımlar 20 dakika süresince 80°C üzerinde ısı uygulanmıştır. Enzim

aktivasyonunun durdurulmasını takiben karışım süzülerek; sıvı kısım ve posa ayrılmıştır. Ayrım işleminden sonra örnekler 5000g de 20 dakika santrifüj edilmiş ve santrifüj işlemi sonunda 2 katman oluşmuştur. Bu noktada oluşan tortu faz (suda çözülme-yen faz) ve sıvı faz (suda çözülebilen faz) birbirinden ayrılmıştır. Sıvı faz +4°C'deki soğuk depoda hızlı bir şekilde soğutulmuş ve bu işlemi takiben liyofilizatör kullanılarak kurutulmuştur. Kurutma işlemi -20°C'de 24 saat süresince uygulanmıştır. Kurutulmuş olan örnekler öğütücü kullanılarak toz hale getirilmiş ve -18°C de derin dondurucuda analiz yapılincaya kadar muhafazaya alınmıştır.



Şekil 1.4. Hidrolizat işlem basamakları (Bougatef et al., 2010)

3.3.2. Balık protein hidrolizatların depolanması

Depolamadaki kararlılığını tespit amacıyla üretilen balık protein hidrolizatlarının bir bölümü ise -18°C de polietilen ambalajlar içerisinde muhafazaya alınmıştır. 6 aylık depolama periyodu sonunda tüm gruplarda antioksidant özellikleri gösteren analizler ile aminoasit dizilim analizleri tekrarlanmıştır.

3.4. Analiz Metotları

3.4.1. Protein çözünürlüğü

Protein çözünürlüğünü tespit etmek için 10mg hidrolizat tozu 8 ml deionize suya eklenmiş ve bu karışımın pH'ı 3, 5, 7 ve 9'a sabitlenmiştir. PH stabilitesi için 1M HCl ve 1M NaOH solusyonları dengeleyici olarak kullanılmıştır. Stabil hale gelen ve pH ları sabitlenmiş olan solusyonlar 30 dakika manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Bu işlemi takiben karışım hacimleri saf su kullanılarak 10 ml ye tamamlanmıştır. Eklenen suyun pH ları da ekleneceği solusyon ile aynı tutulmuştur. Daha sonra ultra santrifüj ile 5000g de 15 dakika santrifüj işlemine tabii tutulmuştur. Protein miktarını tespit etmek için Lowry et al., (1951)ve bovin serum albumin standart metodu kullanılmıştır. Materyaldeki toplam protein miktarı 0,5 M NaOH de örneğin çözülmesinden sonra tespit edilmiştir.

Protein Çözünürlüğü için kullanılacak formül;

$$\text{Çözünürlük (\%)} = \frac{\text{sıvı kısmın protein miktarı}}{\text{Örneğin toplam protein miktarı}} \times 100$$

3.4.2. Hidroliz derecesinin ölçülmesi

Hidroliz derecesinin ölçülmesi için kullanılacak olan metot Benjakul and Morrissey (1997) metodunun bazı modifikasyonlar ile uygulanan metodu olmuştur. Analiz liyofilize edilmeden önce elde edilen protein hidrolizat sıvı fazlarında uygulanmıştır. 60 dakika hidroliz işlemi sonunda değerler tespit edilmiştir. Metot; α -aminoasit miktarının hidroliz işlemi sonundaki kaybının oranlanmasına dayanmaktadır.

1.a Elde edilmiş olan sıvı fazdan 125 μ l alınmış ve 2ml 0.2125 M sodyum fosfat tamponunda (pH:8.2) eklenmiş ve bu karışıma 1ml %0.01 lik TNBS (2,4,6 – tirinitrobenzensulfonik asit) eklenmiştir. Karıştırılan ve bu karışım 20 dakika boyunca karanlık ortamda 50°C' ye ayarlanmış su banyosu içinde inkübe edilmiştir. Sürenin bitiminde reaksiyonun tamamlanıp durdurulması için 2ml 0,1 M sodyum sülfid eklenmiştir. Karışımın ısısının düşmesi için bir miktar beklenmiş, bu süre

sabit oda sıcaklığına düşene kadar (yaklaşık 20 dakika) devam etmiştir. Bu işlemi takiben 420 nm de spektrofotometrik ölçümleri yapılmıştır.

1.b Maksimum α -amino asit miktarının tespiti için yapılması gereken hidroliz işlemi: Ham materyaldeki maksimum α -amino asit miktarının elde edilmesi için yapılması gereken ayrı bir hidroliz yöntemidir (Beak and Cadwallader,1995). Bu işlem için balık başlarının 1:1 oranda 6N HCl solusyonu içinde 105°C'lık etüvde 24 saat tutulmuştur. Bu işlem sonunda asit-hidrolizi yapılan örnekler Whatman No. 1 filtre kâğıdından geçirilerek hidrolize olmayan kısım ayrılmıştır.

Elde edilen sıvı hidrolizat 6N NaOH ile nötürlenmiştir. Bu işlemi takiben 420 nm de spektrofotometrik ölçümleri yapılmıştır. Bu maksimum değerde α -amino asit olarak ifade edilen L –Lösin amino asitidir.

Hidroliz derecesi şu formül kullanılarak hesaplanır; (Benjakul and Morissey, 1997)

$$HD (\%) = [(Lt-Lo)/(Lmax-Lo)] \times 100$$

Lt: zamana bağlı kaybolan α -amino asit miktarı

Lo: ham maddenin sahip olduğu α -amino asit miktarı

Lmax: maximum α -amino asit miktarı

3.5. Antioksidatif Özellikler

Antioksidanlar, okside olabilir malzemelerin oksidasyonunu geç başlatan veya hızını düşüren maddelerdir. Sentetik oksidanlar endüstriyel işlemlerde gıda maddelerinin depolama stabilitelerini artırmada kullanılmaktadır. Ancak, sentetik antioksidanların olası toksisitesi sebebiyle, kullanımı azalmaktadır. Bu nedenlerle, doğal antioksidanlara olan ilgi sentetik ürenlere nazaran her geçen gün artış göstermektedir. Kaynaklarda, doğal maddelerin önemli antioksidan özellikler sergilediği pek çok çalışmada değenilen bir konu olmuştur.

3.5.1. DPPH Serbest radikali giderme kapasitesi

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi Yen and Wu (1999) metodu kullanılarak tespit edilmiştir.

Liyofilize edilmiş olan toz örnekler (3 mg toz/ml hidrolizat için) 0.05M fosfat tamponunda (pH: 6.5) çözündürülmüştür. Çözülme sonrasında bu solusyondan 4 ml alınmış ve üzerine 1 ml DPPH solusyonu (%95 methanol de hazırlanan ve konsantrasyonu 0.2mM olmalıdır) eklenmiştir. Bu solusyon güçlü bir şekilde çalkalınıp 30 dakika sabit şekilde bekletilmiştir. Beklenen süre sonunda spektrofotometre ile 517 nm de ölçümü yapılmıştır. Hesaplama için bu oranlarda 3 ölçüm yapılmıştır. Bu 3 ölçümün grupları şunlardır; 1. grup sadece DPPH içermekte (kontrol), 2. grup örnek DPPH içermekte ve 3. grup da ise (DPPH olmamalı)sadece örnek bulunmuştur. Hesaplama formülü şu şekildedir.

$$\text{DPPH serbest radikali giderme kapasitesi (\%)} = [A_0 - (A_1 - A_s)] / A_0 \times 100.$$

A_0 = Sadece DPPH içeren kontrol grubunun absorbans değeridir.

A_1 = Örnek ve DPPH içeren grubun absorbans değeridir

A_s = Sadece örnek içeren grubun absorbans değeridir (DPPH içermez)

3.5.2. Metal şelatlama

Fe^{2+} şelatlama aktivitesi Chung et al. (2002) 'nin uyguladığı metoda bağlı kalınarak yapılmıştır. Metoda göre 800 µl örnek hidrolizat 10 µl, 2mM FeCl_2 ve 20 µl, 5mM ferrozin içeren karışıma eklenecek ve vortex kullanılarak karıştırılmıştır. Ölçüm öncesi 10 dakika oda sıcaklığında tutularak reaksiyon süresi beklemiştir. Takiben 562 nm de spektrofotometrik ölçüm gerçekleştirilmiştir.

Kontrol örneği için göre 800 µl saf su, 10 µl, 2mM FeCl_2 ve 20 µl, 5mM ferrozin karışımına eklenecek ve 562 nm de spektrofotometrik ölçüm gerçekleştirilmiştir. Hesaplama formülü aşağıdaki gibidir.

$$\text{Şelatlama Kabiliyeti (\%)} = [1 - (\text{Absorbans örnek} / \text{Absorbans kontrol})] \times 100.$$

3.5.3. Antioksidatif aktivite

Elde edilen hidrolizatların antioksidatif aktivite tespiti için kullanılacak referans metod Chen et al., (1995) ‘nin ferric thiocyanate metodu olmuştur.

Analiz metoduna göre (3 mg toz/ml hidrolizat için, 1mg/ml jel filtrasyonu için, 150 µg/ml HPLC-1 saflaştırma için, 100 µg/ml HPLC-2 saflaştırma için) hidrolizat tozu içinde 1ml de-iyonize su, 1ml 0.1 M Sodyum fosfat tamponu(pH:7.0) ve 1 ml etanol(%95) içinde bulunan 50 mM linoleic asit olan solusyona eklenmiş 5 ml lik tüpe aktarılılarak karıştırılmış ve çözündürülmüştür. Deney tüpleri oksidasyonu hızlandırmak için karanlık ve 60°C’ a ayarlanmış etüvde tutulmuştur. Elde edilen bu reaksiyon karışımından 50µl alınıp içinde 2.35 ml %75 etanol, 50µl %30 amonyum tiyosiyanat ve 50µl 20mM ferrous chloride (%3.5 HCl içinde çözündürülmüş) karışıma eklenmiştir. Karışım 3 dakika boyunca tüp karıştırıcısı ile (vortex) karıştırılmıştır. Ve bu işlemi takiben 500nm de spektrofotometrik ölçüm alınmıştır. Bu andan itibaren her gün karanlıkta bekletilen tüplerden 50µl den alınıp karışıma eklenmiş ve ölçüm alınmıştır. Spektrofotometrik absorbans değeri 0.3 görülene kadar devam etmiştir. Chen et al., (1995)’ne göre bu değer görülenene kadar geçen süre indüksiyon süresidir. Bağlı anti-oksidatif değer bu değer yakalanana kadar geçen gün sayısı ile ifade edilmektedir.

3.6. Fonksiyonel Özellikler

3.6.1. Emülsiyon özellikleri

Toz protein hidrolizatının emülsiyon özelliği Pearce and Kinsella (1978) metodunun emülsiyon aktivite indeksi (EAI) ve Emülsiyon Stabilite indeksi (ESI) olarak modifiye edilmiş metodu ile tespit edilmiştir. Hidrolizat solusyonuna (6ml) çiçek yağı (2ml) eklenerek 1 dakika ultratorax kullanılarak yüksek devirde karıştırılmıştır. Oluşan karışımın orta bölümündeki sıvıdan (50µl) 2 örnek alınmıştır. İlk alınan örnek karıştırma işlemi bittiği anda (50µl) ikinci örnek ise karışımın 10 dakika bekletilmesi sonucunda (50µl) alınmıştır. Alınan örnekler %0,1 Sodyum dodecyl sülfat (SDS) solusyonu ile 100 kat seyreltilmiştir. Elde edilen

karişım vortex ile 10 sn kariştırılmıştır. Bu işlemi takiben Perkin Elmer UV-Visible spektropen ile (A_{500} de) olęım yapılmıştır.

$$EAI \text{ (m}^2\text{/g)} = (2 \times 2.303 \times A \times DF) / I \Phi C$$

$$A = A_{500}$$

$$DF = \text{Seyreltme faktörü (100)}$$

$$I = \text{spektro kúvetinin taban tek kenar olęüsü(m)}$$

$$\Phi = \text{Kullanılan yağ miktarı}$$

$$C = \text{Hidroliz derecesi}$$

$$ESI \text{ (dakika)} = A_0 \times \Delta t / \Delta A$$

$$\Delta A = A_0 - A_{10}$$

$$\Delta t = 10 \text{ dakika}$$

3.6.2. Köpürme özellikleri

Köpürme özellikleri altında elde edilen hidrolizatların köpürme miktarı (FE) ve köpürme stabilitesi (FS) Shahidi et al. (1995) metodunun modifiye edilmiş şekli kullanılarak tespit edilmiştir. Hidrolizat solusyonundan 20 ml alınarak 100 ml'lik mezüre aktarılmıştır. 1 dakika boyunca 13,400 rpm hızda ultratorax kullanılarak oda sıcaklığında kariştırılmıştır. Örnekler anlık (0 dakika) ve 60 dakika süre ile bekletilmiştir. Formül hacimsel değerlere göre şu şekildedir.

$$\text{Köpürme miktarı} = FE(\%) = (V_T / V_0) \times 100$$

$$\text{Köpürme stabilitesi} = FS(\%) = (V_t / V_0) \times 100$$

$$V_T = \text{İşlem sonrası toplam hacim}$$

$$V_0 = \text{Köpürme öncesi normal hacim(0. dakika)}$$

$$V_t = 60 \text{ dakika bekleme sonrası tespt edilen hacim}$$

3.6.3. Su tutma kapasitesi (WHC)

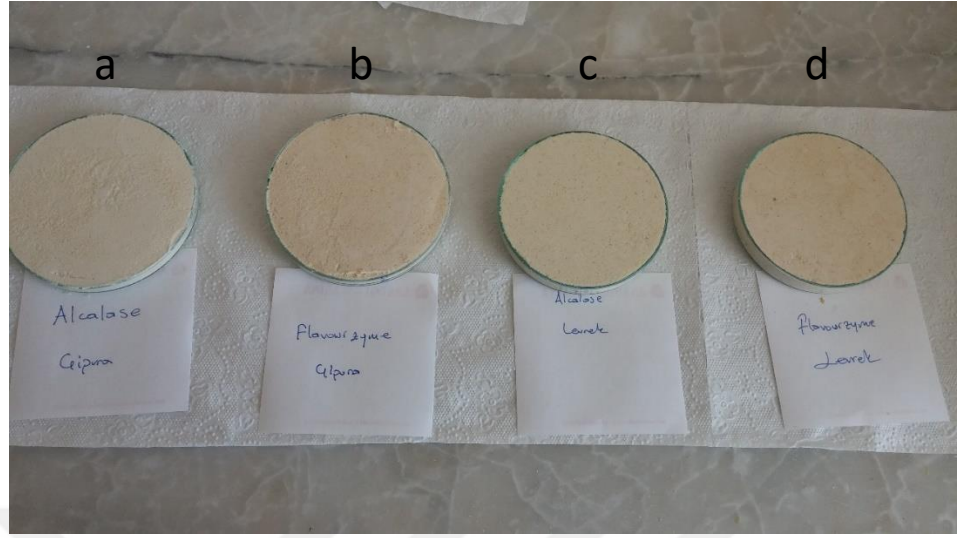
Elde edilen toz balık hidrolizatı örneklerinin balık kıymasına eklenmesi sonucunda kıymanın su tutma kapasitesindeki değişim üzerine uygulanan Eide et al., (1982) referansına dayanarak uygulanan metottur. Kullanılan balık kıyması miktarının %2'si kadar balık protein hidrolizat tozu eklenmiştir. Balık donmuş, çözölmüş ya da taze balık olabilir. Bu karıştırma işleminden sonra balık karışımının tartımı alınıp kaydedilmiştir. Bunu takiben 300g düşük devir de 10 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirilmiş ve işlem sonunda kıyma tartılarak kaybedilen su miktarı üzerinden su tutma kaybı tespit edilmiştir. Analizde dört tekerrür kullanılmıştır.

3.6.4. Yağ tutma kapasitesi (OHC)

Elde edilen toz protein hidrolizatlarından 0,5g örnek 10ml günlük kullanım yapılan ayçiçek yağı ile karıştırılmasıyla yağ tutma kapasitesi ölçölmüştür (Haque and Mozaffar,1992). 0,5gr örnek ile 10ml sıvı yağ santrifüj tüpüne alınarak, 30 saniye boyunca ultratorax ile oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Ardından 2800g, 30 dakika süreyle santrifüj işlemi uygulanarak yağ dağılımı gerçekleşmiştir. Proteinin emdiği yağ geriye kalan hacimden çıkarılarak ölçüm sağlanmıştır.

3.6.5. Renk özellikleri

Spektropen (Hach-Lange GmbH & Co., Dusseldorf, Germany) renk ölçüm cihazı kullanılarak Schubring, (2002) metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Renk ölçümü toz haldeki hidrolizat örnekleri üzerinden gerçekleştirilmiştir. Petri kabına yüzeyi düz olarak aktarılan toz örneklerde renk ölçümü 10 tekrarlı şekilde gerçekleşmiştir. Sonuçlar CIE Lab sisteminde L*parlaklığı (0'dan 100'e kadar derecelendirme siyahtan beyaza); a*, (+) kırmızı veya (-) yeşil ve b*, (+) sarı veya (-) mavi skalasında verilmiştir.



Şekil 1.5. Renk ölçümü, petri kapların içerisinde, elde edilen toz protein, **a.** Çipura Alkalaz, **b.** Çipura Flavur enzim, **c.** Levrek Alkalaz, **d.** Levrek Flavur enzim.

3.7. İstatistiksel Değerlendirme

Tüm analizler 3 paralelli gerçekleştirilmektedir. İstatistiksel analiz, SPSS for Windows 9.0 programından yararlanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar, ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak verilmiştir. Çoklu karşılaştırmalar için parametrik varsayımların gerçekleştiği verilerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Bu test ile fark bulunan gruplarda, farklılığın nereden kaynaklandığını bulmak için, Post-hoc Tukey HSD testi ve Duncan testi kullanılmıştır. Gruplar arası ve depolamaya bağlı parametrelerde değerlendirmeler ve parametreler arası ilişki $p < 0,05$ olması anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Protein Çözünürlüğü (%)

Yapılan protein çözünürlüğü tespiti analizinde en yüksek değer Alkalaz enzimi ile elde edilen protein hidrolizatlarında tespit edilmiştir. Flavur enzim ile her iki balık türünde Alkalaz enzime göre daha düşük değerler tespit edilmiştir. Ancak gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamamıştır.

Çizelge 1.1. Gruplar arasında protein çözünürlüğü değerlerindeki değişimler.

	Çipura	Levrek
Alkalaz	98,24±4,47 ^a	98,59±3,12 ^a
Flavur enzim	98,51±5,04 ^a	96,17±5,58 ^a

Aynı sütundaki harfler istatistiksel önemi ($p < 0,05$) belirtir.

4.2. Hidroliz Derecesi (%)

Hidroliz derecesi (H.D.) 60 dk.'dan başlamak üzere 2 türde de ayrı ayrı 90 ve 120 dk'larda alınan örneklerle tespit edilmiştir. Buna göre Alkalaz enzimi ile elde edilen 120. dk' daki balık protein hidrolizatındaki en yüksek H.D. 'si Alkalaz ile levrek ve çipura balıkları balık protein hidrolizatında tespit edilmiştir. Hidroliz derecelerinin tespit edildiği tüm dakikalarda türler arası anlamlı istatistiksel fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Tüm gruplarda hidroliz derecelerinin, hidroliz süresi artışına bağlı olarak arttığı gözlemlenmiştir. Buna istinaden Alkalaz enzimiyle elde edilen hidroliz derecesi Flavur enzim'e göre daha yüksektir.

Çizelge 1.2. Zamana bağlı türler arası hidroliz derecelerindeki % değişimler (Aynı sıradaki farklı harfler gruplar arası farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$)).

	Çipura		Levrek	
Zaman / %	Alkalaz	Flavur enzim	Alkalaz	Flavur enzim
60 dakika	25,41±2,86a	20,34±2,47a	16,21±2,65a	14,26±2,71a
90 dakika	29,27±3,45a	24,49±3,11a	24,31±2,35b	19,91±2,06a
120 dakika	31,08±4,34a	27,43±4,40b	28,89±1,46b	23,52±2,78b

Aynı sütundaki harfler istatistiksel önemi ($P < 0,05$) belirtir.

4.3. Antioksidatif Özellikler

4.3.1 DPPH (Serbest radikali giderme kapasitesi)

0.günde ve 6 aylık depolama sonunda gruplar arasında istatistiksel fark tespit edilememiştir ($p < 0.05$). Tüm gruplarda DPPH değerlerinde 6 aylık depolamanın sonunda tüm gruplarda DPPH'ın azaldığı, düşüşlerle birlikte depolama sonunda en yüksek DPPH özelliği Alkalaz ile elde edilen çipura balıklarında tespit edilmiştir.

Çizelge 1.3. Gruplar arasında DPPH değerlerindeki değişimler

	Çipura		Levrek	
Zaman/%	Alkalaz	Flavur enzim	Alkalaz	Flavur enzim
0. Gün	90,58±0,11a	91,82±0,17b	90,38±0,38a	93,24±0,22b
6. Ay	72,65±0,69a	70,54±1,11b	68,48±2,50a	70,49±1,05b

Aynı satırdaki harfler istatistiksel önemi ($p < 0,05$), aynı sütundaki sayılar istatistiksel önemi ($p < 0,05$) belirtir.

4.3.2. Metal şelatlama

0. günde yapılan metal şelatlama analizinde en yüksek metal bağlama özelliği Alkalaz ile elde edilen levrek protein hidrolizatında tespit edilmiştir. 6 aylık depolama sonunda yapılan analizlerde ise en yüksek metal bağlama elde edilen çipura protein hidrolizatında tespit edilmiştir. 0. ve 6.ay sonunda yapılan analizlerde gruplar arası istatistiksel fark tespit edilememiştir.

Çizelge 1.4. Gruplar arasında metal şelatlama değerlerindeki değişimler (%)

	Çipura		Levrek	
	Alkalaz	Flavur enzim	Alkalaz	Flavur enzim
0. Gün	83,91±8,98 ^a	73,16±3,56 ^a	95,95±14,69 ^a	57,26±3,92 ^b
6. Ay	72,58±1,17 ^a	67,57±0,92 ^b	68,68±0,37 ^a	43,40±1,23 ^b

Aynı satırdaki aynı harfler ve aynı sütundaki aynı sayılar arasında istatistiksel fark yoktur ($p<0.05$).

4.3.3. Antioksidatif aktivite

Her 2 türden de elde edilen balık protein hidrolizatlarının antioksidatif aktiviteleri tespit edilmiş ve sentetik antioksidan olan bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) ve kontrol grubuna karşı aktiviteleri değerlendirilmiştir.

Buna göre 0.günde yapılan analizde en düşük antioksidatif aktivite sırasıyla Alkalaz ve çipuradan elde edilen protein hidrolizatında ve BHA'da tespit edilmiştir, ancak gruplar arası istatistiksel fark tespit edilememiştir. 6 ay depolama sonunda yapılan analize göre BHA en düşük değere sahip olmakla birlikte deneme gruplarında en düşük değer ise çipuradan elde edilen balık protein hidrolizatında tespit edilmiştir. Depolama süresi sonunda kontrol grubuyla birlikte her 2 türdeki antioksidatif aktivite sonlanmıştır.

Çizelge 1.5. Antioksidatif aktivitedeki değişimler birim

	Çipura		Levrek		BHA	Kontrol
	Alkalaz	Flavurenzim	Alkalaz	Flavurenzim		
0.gün	0,13±0,0014 ^a	0,13±0,008 ^a	0,14±0,007 ^a	0,15±0,01 ^a	0,11±0,009 ^a	0,12±0,01 ^a
6.ay	2,03±0,78 ^a	2,11±0,90 ^a	2,44±0,84 ^a	2,49±0,89 ^a	0,12±0,02 ^a	2,51±0,03 ^a

Aynı satırdaki harfler istatistiksel önemi ($p < 0,05$), aynı sütundaki sayılar istatistiksel önemi ($p < 0,05$) belirtir.

4.4. Fonksiyonel Özellikler

4.4.1. Su Tutma kapasitesi (WHC) (g protein/mL su)

Birçok çalışma göstermektedir ki balık protein hidrolizatları mükemmel bir su tutma kapasitesi gösterir ve kıymalara eklendiğinde pişirme verimini arttırabilir. Su tutma kapasitesi hidroliz derecesi arttıkça artmaktadır (Wasswa et al., 2007). Elde edilen sonuçlar her bir ml suyu bağlayan 1 gr protein olarak verilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel fark bulunmamasına rağmen 0.günde yapılan analize göre en yüksek değer Flavur enzim ile elde edilmiş olan balık protein hidrolizatında tespit edilmiştir. İstatistiki bir fark gözlemlenmemiştir.

Çizelge 1.6. 0.gün gruplar arasında WHC değerlerindeki değişimler g protein/mL

	Çipura	Levrek
Alkalaz	18,50±0,50 ^a	17,66±0,28 ^a
Flavur enzim	18,83±0,28 ^a	17,50±0,50 ^a

Aynı satırdaki harfler istatistiksel önemi ($p < 0,05$), aynı sütundaki sayılar istatistiksel önemi ($p < 0,05$) belirtir.

4.4.2. Yağ tutma kapasitesi (g protein/mL su)

Alkalaz ve Flavur enzim kullanılarak elde edilen balık protein hidrolizlarının yağ tutma kapasitesi Tablo 7’de verilmiştir.

Çizelge 1.7: 0.gün balık protein hidrolizatının yağ tutma kapasitesindeki değişimler g protein/mL

	Çipura	Levrek
Alkalaz	8,40±0,17 ^a	8,06±0,15 ^a
Flavorzyme	8,53±0,20 ^a	8,16±0,15 ^a

Aynı satırdaki harfler istatistiksel önemi ($p < 0,05$), aynı sütundaki sayılar istatistiksel önemi ($p < 0,05$) belirtir.

Farklı enzim kullanmanın yağ tutma kapasitesi üzerinde; çipura ve levrek omurgaları kullanılarak üretilen balık protein hidrolizatlarında bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

4.4.3. Emülsiyon aktivite indeksi (EAI) (m²/g)

Tüm gruplarda yoğunluklara ve kullanılan enzim türüne bağlı olarak farklı değerler elde edilmiştir.

Çizelge 1.8. Gruplar arasında EAI’de meydana gelen değişimler

	Çipura		Levrek	
	Alkalaz	Flavur enzim	Alkalaz	Flavur enzim
%0,1	0,39±0,04 ^a	0,36±0,01 ^a	0,42±0,01 ^a	0,46±0,05 ^a
%0,5	0,24±0,0 ^b	0,19±0,01 ^b	0,30±0,03 ^b	0,27±0,02 ^b
%1	0,19±0,0 ^c	0,23±0,0 ^c	0,23±0,01 ^c	0,27±0,02 ^b
%3	0,16±0,0 ^d	0,44±0,0 ^d	0,17±0,0 ^d	0,37±0,01 ^c

Aynı sütundaki harfler istatistiksel önemi ($P < 0,05$) belirtir.

Her 2 türden ve enzimden de üretilen protein hidrolizatlarında enzim konsantrasyonuna bağlı olarak EAI ve ESI tespit edilmiştir.

Yapılan analizde çipura ve levrek Alkalaz dan elde edilen protein hidrolizatında enzim konsantrasyonu artışına bağlı olarak EAI'nın ve ESI'nın azaldığı tespit edilmiştir. Flavur enzim ile elde edilen protein hidrolizatında ise tür gözetmeksizin enzim konsantrasyonu artışına bağlı olarak ESI'da doğrusal bir azalma tespit edilmiştir.

4.4.4. Emülsiyon stabilite indeksi (ESI) (DK)

Tüm gruplarda yoğunluklarına ve kullanılan enzim türüne bağlı olarak farklı değerler elde edilmiştir.

Çizelge 1.9. Gruplar arasında ESI'de meydana gelen değişimler

	Çipura		Levrek	
Yoğunluk/dk	Alkalaz	Flavur enzim	Alkalaz	Flavur enzim
%0,1	1,69±0,85 ^a	20,21±104,17 ^a	0,95±0,28 ^a	0,99±0,05 ^a
%0,5	0,93±0,20 ^a	7,06±8,36 ^a	3,05±5,59 ^a	0,77±0,22 ^{ab}
%1	0,90±0,23 ^a	1,49±0,86 ^a	2,43±2,28 ^a	0,56±0,16 ^b
%3	0,76±0,35 ^a	0,20±0,11 ^a	4,38±1,28 ^a	0,46±0,06 ^b

Aynı satırdaki harfler istatistiksel önemi ($p < 0,05$), aynı sütundaki sayılar istatistiksel önemi ($p < 0,05$) belirtir.

4.4.5. Köpürme miktarı (%)

Köpürme özelliği protein hidrolizatının fiziko-kimyasal özelliklerinden biridir. Proteinlerde yüksek köpürme kapasitesi olması proteinin daha elastiki olmasını sağlar ve yüzey gerilimini azaltma kapasitesini artırır. Yüksek molekül ağırlığına sahip peptidler protein hidrolizatının köpürme stabilitesi ile pozitif olarak ilişkilidir (Klompong et al., 2007).

Enz m türlerine bağlı olarak tüm yoğunluklarda farklı köpürme miktarları elde edilmiştir.

Çizelge 1.10. Gruplar arasında köpürme miktarında meydana gelen değişimler.

	Çipura		Levrek	
Yoğunluk/mm	Alkalaz	Flavur enzim	Alkalaz	Flavur enzim
%0,5	105,66±1,15a	104,66±0,58b	104,66±0,58a	104,33±0,58b
%1	112,0±1,0a	110,33±1,52b	112,33±0,58a	110,33±0,58b
%3	118,33±1,53a	112,66±0,58 ^b	124,67±3,51a	111,67±1,53b

Aynı satırdaki harfler istatistiksel önemi ($p < 0,05$), aynı sütundaki sayılar istatistiksel önemi ($p < 0,05$) belirtir. Türe ait enzimler arası istatistiksel benzerliği gösterir ($p < 0,05$)

4.4.6. Köpürme stabilitesi

Buna göre 0. dakikada en yüksek köpürme oranı levrekten elde edilen toz protein hidrolizatında gözlemlenmiştir. Tüm gruplarda köpürme stabilitesinde zaman ilerledikçe azaldığı tespit edilmiştir.

Çizelge 1.11. Gruplar arasında köpürme stabilitesinde meydana gelen değişimler.

	Çipura		Levrek	
Zaman/mm	Alkalaz	Flavur enzim	Alkalaz	Flavur enzim
0	4,41±0,22 ^a	4,81±0,56 ^a	29,43±0,18 ^a	35,67±1,48a
5	2,33±0,27 ^a	4,1±0,15 ^a	17,33±1,46 ^a	25,67±0,08 ^a
10	2,08±0,11 ^a	3,26±0,12 ^a	16,66±0,85 ^a	15,66±0,01 ^a
40	0,53± 0,02 ^a	3,03±0,5 ^a	13,66±0,1 ^a	5,13±0,12 ^a
60	0,21±0,2 ^a	2,33±0,26	11,33±0,14 ^a	4,33±0,13 ^a

Aynı satırdaki harfler istatistiksel önemi ($p < 0,05$), aynı sütundaki sayılar istatistiksel önemi ($p < 0,05$) belirtir.

4.4.7. Renk özellikleri

Her 2 türde da L^* , a^* ve b^* değerleri ölçülmüştür. 0. Gündeki en yüksek parlaklık (L^*) değeri çipuradan ve Flavur enzim de elde edilmiş olan balık protein hidrolizatında olup diğer gruplarla arasında istatistiksel bir fark tespit edilememiştir ($p>0.05$). Tüm gruplardaki a^* değerleri yeşile dönük artış göstermekte, (–) değerler olarak tespit edilmiştir. En yüksek a^* değeri levrek alkalaz da tespit edilmiştir ($p>0.05$). b^* değeri tüm gruplarda sarıya yakın (+) değerler almıştır ve en yüksek b^* değeri levrek türünde Flavur enzim enziminde tespit edilmiştir.

Çizelge 1.12. Renk özellikleri

Balık protein hidrolizatları enzim ve tür olarak 0.gün renk ölçümünü göstermektedir.

Tür/Renk parametresi	Çipura		Levrek	
	Alkalaz	Flavur enzim	Alkalaz	Flavur enzim
L^*	89,51±2,39 ^a	91.24±2,33 ^{ab}	82,78±2,03 ^b	89,12±2,01 ^c
a^*	-1,69±0,11 ^a	-1,78±0,21 ^b	-0,73±0,36 ^c	-0,8±0,35 ^b
b^*	18,21±0,63 ^a	22,15±0,91 ^{bc}	26,19±1,31 ^b	29,43±0,89 ^c

Aynı satırdaki harfler istatistiksel önemi ($p < 0,05$) belirtir.

4.4.8.Aminoasit diziliminin tanımlanması

Üretimden sonra 0.gün ve 6.ay sonuçlarına göre Alkalaz dan elde edilen verim daha yüksektir. 6. ay sonunda çok düşük miktarlarda içerikte düşüş gözlenmiştir. Herhangi bir istatistiki fark gözlemlenmemiştir ($p < 0.05$).

Çizelge 1.13. Balık protein hidrolizatlarının protein miktarı yüzdeleri.

% Protein	0.Gün	6.Ay
Çipura- Alkalaz	81,22±0,25 ^a	80,38±0,41 ^b
Çipura – Flavur enzim	75,19±0,34 ^a	74,44±0,29 ^b
Levrek- Alkalaz	80,94±0,14 ^a	80,66±0,37 ^b
Levrek – Flavur enzim	78,78±0,19 ^a	78,31±0,33 ^b

Aynı satırdaki farklı rakamlar grup içi, aynı sütundaki farklı harfler gruplar arası farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$).

Çizelge 1.14. Balık protein hidrolizatlarının aminoasit kompozisyonları mg/100gr

	Çipura				Levrek			
	Alkalaz		Flavur enzim		Alkalaz		Flavur enzim	
	0.Gün	6.Ay	0.Gün	6.Ay	0.Gün	6.Ay	0.Gün	6.Ay
L-Alanin (Ala)	5047,5± 334,46a	8310±1 72,53b	5357,5± 103,94a	7151±1 128,54b	5344±2 8,28a	6956±3 37,96b	5710±1 1,31a	11951± 115,25b
L-Aspartik asit (Asp)	5855,5± 164,75a	3811,5± 26,16b	5075±1 2,72a	3429±9 1,92b	4534,5± 20,50a	3368±8, 48b	5937±4 1,01a	4035±8, 48b
L-Metionin (Met)	2812,5± 27,57a	2957,5± 13,43b	2683±1 2,72a	2227±2 4,04b	3036,5± 21,92a	2636±1, 41b	2732,5± 31,81a	2298±2 6,87b
L- Glutamik	5805±1 47,07a	4484±1 5,55b	6429±1 4,14a	4368,5± 34,64b	5001±9 1,92a	4566,5± 7,77b	5970±5 0,91a	4980±1 4,14b
L- Fenilalanin	3891±3 1,11a	4494,5± 27,57b	3492±1 8,38a	3574,5± 96,19b	4478,5± 24,74a	4464±2 0,11b	3861,5± 48,79a	3873±3 3,23b
L-Lizin (Lys)	4739,5± 289,20a	2915±9, 89b	5461±2 1,21a	2881,5± 23,33b	2639,5± 14,84a	3584±3 6,76b	3666,5± 55,86a	2483±3 7,47b
L-Histidin (His)	2464±3 9,59a	1815,5± 12,02b	2635,5± 23,33a	1777±2 1,21b	2008,5± 10,60a	1599,5± 81,31b	1625±1 8,38a	1582±5 7,27b
L-Tirozin (Tyr)	3309±7, 07a	3694±1 8,38b	2776,5± 14,84a	2723,5± 37,47b	3738±1 4,14a	3398±4, 24b	2878,5± 41,71a	2581±2 3,33b
L-Glisin (Gly)	8893±7 3,53a	10306± 66,46b	9209±4 6,66a	10281,5 ±139,9b	10936± 56,56a	11170,5 ±17,67b	11023,5 ±133,64 a	12047± 119,50b

L-Valin (Val)	3681,5± 37,47a	4116±1 9,79b	3521±1 8,38a	3788,5± 44,54b	3899,5± 14,84a	3845,5± 0,70b	3491±3 6,76a	3754±2 4,74b
L-Lösin (Leu)	7086±6 0,81a	8327±2 4,04b	6777,5± 34,64a	7111,5± 84,14b	7627,5± 34,64a	7876±1, 41b	7089,5± 85,55a	7267±5 8,68b
L-İsolösin (Ile)	4528±3 9,59a	5696,5± 24,74b	4229±1 9,79a	5346±6 9,29b	5058,5± 19,09a	5312±7, 07b	4530±5 0,91a	5389±4 4,54b
L-Treonin (Thr)	6866,5± 12,02a	7668±4 2,42b	6189±2 1,21a	6659,5± 71,41b	7321±2 5,45a	7834±6 3,63b	6801,5± 65,76a	7022±4 9,49b
L-Serin (Ser)	4249,5± 41,71a	3377,5± 17,67b	4193±1 9,79a	3098,5± 33,23b	4015,5± 19,09a	3529±7, 07b	3964±4 1,01a	3387±2 1,92b
L-Prolin (Pro)	6005,5± 10,60a	7151±1 85,26b	6067±9 7,58a	7217±6 08,11b	9504,5± 58,68a	8351,5± 60,51b	8355±6 7,88a	5393±1 6,26b
L-Arjinin (Arg)	1056,5± 12,02a	531±1,4 1b	1009,5± 10,60a	369,5±2 ,12b	747,5±0 ,70a	552±7,0 7b	846,5±1 0,60a	370±1,4 1b

Aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$).

Üretimden hemen sonra 0.günde ve 6.ayda çipura ve levrek Alkalaz protein hidrolizatının çoğunluk amino asit içeriği Flavur enzim kullanılarak üretilen protein hidrolizatından daha yüksek tespit edilmiştir. Elde edilen protein değerleri, her 2 türden elde edilen protein hidrolizatlarında iyi bir protein geri kazanımı sağlandığı tespit edilmiştir. Hem 0. günde hemde 6 aylık depolama sonunda gruplar arasında ve grup içlerinde istatistiksel farklar tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Çipura ve levrek protein hidrolizatlarının aminoasit kompozisyonlarının genel olarak benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Balık protein hidrolizatları aminoasit kompozisyonlarının 0.gün verileri karşılaştırıldığında treonin, lösin, tirozin, valin ve serin aminoasitleri için Alkalaz grupları Flavur enzim gruplarından daha verimli görülmüştür ($p > 0,05$). Treonin, lösin, tirozin, valin ve serin aminoasidi dışında kalan tüm aminoasitlerinin 0.gün ve 6. ayverileri karşılaştırıldığında çipura, levrek grupları arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Genel anlamda aminoasit kompozisyonlarında benzerlik olmakla birlikte bazı aminoasitlerde türe, enzime bağlı artış ve azalışlar içeriğinde farklılıklar oluşturmuştur. Örneğin bazı gruplarda fenilalanin ve histidin daha yüksek iken, bazı gruplarda prolin ve glisin daha yüksek bulunmuştur.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Protein çözünürlüğü analizi proteinin depolama boyunca kalitesinin izlenmesine kullanılan parametrelerden biridir. Yüksek protein çözünürlüğü jel, köpük ve emülsiyon oluşumunda gereklidir (Muzaifa et al., 2012). Bu çalışmada da protein çözünürlüğü değerleri hidroliz derecesiyle çipura ve levrekten elde edilen toz protein hidrolizatında her iki türde ve enzimde yakınlık ve paralellik göstermektedir. Alkalaz enziminde, Flavur enzime oranla daha fazla verim alınmıştır. İstatistiki olarak bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0,05$).

Hidroliz boyunca tüm yan ürünler kahverengi tonlarında sıvıya dönüşmektedir. Yapmış olduğumuz bu tez kapsamında hidroliz süresinin artması ile hidroliz derecesi de doğru orantılı olarak artış göstermiştir. Özellikle çipura üzerinde kullanılan Alkalaz enziminde hidroliz derecesi en iyi sonucu vermiştir. En düşük hidroliz derecesi Flavur enzim kullanılan levrek örneklerinde gözlemlenmiştir. Hidroliz işlemi başlangıcında hızlı bir şekilde parçalanan ürün ilerleyen süre boyunca hidroliz işleminin yavaşlamasıyla optimal seviyede kararlı bir yapıya ulaşmıştır.

DPPH antioksidatif özelliğin tespitinde kullanılan yöntemlerden birisidir. Bu çalışmaya göre 0. günde levrekten Flavur enzim ile elde edilen toz hidrolizatın içindeki peptitlerin daha yoğun olduğu söylenebilir. Depolama sonrası yapılan analizlerde çipura ve levrekten her iki enzim için DPPH'nin bir miktar azaldığı görülmüştür. Çipura, Alkalaz enziminde azalma Flavur enzime göre daha az gözlemlenmiştir ($p>0,05$).

Metal şelatlama hidroliz derecesi süresi ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Alkalaz enziminin her iki türde de Flavur enzim ile kıyaslandığında lipid oksidasyonu konusunda daha fazla verim gösterdiği görülmektedir. Buna göre en yüksek metal şelatlama aktivitesinin Alkalaz kullanılan levrekten elde edilen bulunduğu saptanmıştır. Depolama süresi boyunca şelatlama etkisinde tüm gruplarda azalma saptanmıştır. Lipit oksidasyonu, gıdanın rengini, lezzetini, kokusunu ve içerik kalitesini etkilemektedir. En yüksek antioksidatif aktivite levrek balığından Alkalaz ve Flavur enzim ile elde edilen hidrolizatta tespit edilmiştir. En

düşük bulgular çipura türünde ve sentetik antioksidan BHA da saptanmıştır. Kullanılan tüm enzimler her iki türde de sentetik antioksidant olan BHA dan iyi sonuçlar vermiştir.

Wasswa et al., (2007) hidroliz derecesi arttıkça protein hidrolizatının su tutma kapasitesinin doğru oranlarda arttığını bildirmişlerdir. Su tutma kapasitesi, yakın özellikte olan peynir altı suyu protein hidrolizatında gözlemlendiğini bildirilmiştir. Bulgularımızda en yüksek su tutma kapasitesi, hidroliz derecesinin en fazla olduğu çipura üzerinde kullanılan enzimler sonucu elde edilen hidrolizatlarda tespit edilmiştir.

Yağ tutma kapasitesi göz önüne alındığında her iki türde ve enzimde karşılaştırma yapıldığında yakın sonuçlar elde edilmiştir. Farklı enzim kullanımının yağ tutma kapasitesi üzerinde büyük bir etkisinin olmadığını söyleyebiliriz.

Hidroliz derecesinin artması ile birlikte emülsiyon stabilitesinde daha az etki gösteren peptidlerin oluşmasından dolayı EAI ve ESI azalma göstermektedir. Buna göre düşük hidroliz yoğunluğunda daha kuvvetli emülsiyon özelliği gözlemlenmiştir. Çipura, Alkalaz ve Flavur enzim ile elde edilen protein hidrolizatında yüksek miktarda hidroliz işlemi gerçekleştiğinden dolayı bu türlerin protein hidrolizatlarının EAI ve ESI'inde azalma görülmektedir. Levrekte ise çipuraya göre daha az azalma gözlemlenmiştir.

Sentetik maddeler stabil köpük oluşturma için gerekli olan yeteneğe sahip değildirler. Yapılan çalışmada görülen hidroliz derecesinin ve zamanın artmasıyla köpürme stabilitesi azalmaktadır. 0. dakika analizinde köpürme miktarının en yüksek olduğu zamandır. Tüm gruplarda hidroliz derecesindeki artış ile köpürme miktarında artış gözlemlenmiştir. Rakamsal verilere göre levrek alkalazın levrek flavur ve çipura flavurdan çok farklı olmadığı gözükmemektedir.

Duyusal olarak beğeniyi en fazla etkileyen parametrelerden biri renktir. (Wasswa et al., 2007). Çalışmamızda elde edilen tüm toz protein ürünleri sarının yumuşak tonlarında, mısır ununa yakın renk sergilemektedir. Bulgularda 'b' değeriyle ifade edilen sarılık değerinin çipura ve levrek için tüm gruplarda (+)

olduğu ve en yüksek sarı rengin levrekten elde edilen toz protein hidrolizatlarında olduğu görülmektedir. Enzim olarak aynı tür içinde bakıldığında Flavur enzim, Alkalaz enzimine göre daha fazla renklenme sağlamıştır.

TÜBİTAK-MAM laboratuvarlarından gelen sonuçlar doğrultusunda en yüksek protein içeriği 0.gün karşılaştırıldığında çipura ve levrek türlerinde istatistiki fark görülmemiştir ($p>0,05$), bu da Alkalazın Flavur enzime oranla protein eldesinde daha yüksek verim sağladığını göstermektedir. 6. Ay sonunda tüm gruplarda %1 den daha düşük miktarlarda düşüş gözlemlenmiştir.

Balık protein hidrolizatlarında hafif acı tat oluşumu mevcuttur. Prolin aminoasitinin protein hidrolizatlarında acılıktan sorumlu olabileceği bildirilmiştir (Thiansilakul et al., 2007; Tanuja et al., 2012). Diğer yandan, elde edilen protein hidrolizatları lezzet artırıcı aspartik asit, glutamik asit, glisin ve alanini yüksek oranda içermektedir. Alanin, glutamik asit ve glisinin deniz ürünlerinde tat ve lezzetten sorumlu olduğu bildirilmiştir (Deraz, 2014). Bu bilgiler doğrultusunda elde edilen sonuçlarda Flavur enzimin, Alkalaz enzimine göre tür gözetmeksizin tat ve lezzet konusunda daha iyi olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak, yapılan çalışma doğrultusunda Alkalaz enzimiyle üretilen toz protein hidrolizatının Flavur enzime göre daha yüksek seviyelerde fonksiyonel ve antioksidatif özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Bulgular doğrultusunda Alkalaz, çipura ve levrekten üretilen toz protein hidrolizatın gıdalar üzerinde besleyici ve takviye edici doğal katkı maddesi olarak kullanımı mümkündür. Lezzet ve tat kısmında Flavur enzim, Alkalaza oranla daha iyi sonuçlar vermiştir. Alkalaz protein hidrolizatı, amino asit seviyeleri ile tespit edilen acımsı tadın giderilmesi ve -18C depolamanın dışında, depolama süre-sıcaklıklarının çoğaltılarak bu depolama sürelerince fonksiyonel ve antioksidan özelliklerin kullanımı doğrultusunda sonraki aşamalar için çalışma başlatılması tavsiye edilmektedir. Bu çalışmanın ülkemiz su ürünleri yan ürün işlenmesinde, kaynak niteliğinde kullanılmasının iyi bir seçenek olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aylangan A., Öztan A.,** 2008. Hayvansal gıda sanayisi yan ürünleri kullanılarak protein hidrolizatları üretimi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Beak H.H., Cadwallader K.R.** 1995. Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by-products, *Journal of Food Science* 60 (5), pp. 929–935.
- Benjakul S., Morrissey, M.T.** 1997. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (9), pp. 3423–3430.
- Bougatef A., Nedjar-Arroume N., Manni L., Ravallec R., Barkia A. Guillochon D., Nasri M.** 2010. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins, *Food Chemistry*, vol. 118, no. 3, pp. 559–565.
- Chen H.M. Muramoto K., Yamaguchi F.** 1995. Structural analysis of antioxidative peptides from soybean beta-conglycinin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43 (3), pp. 574–578.
- Chung Y.C. Chang C.T. Chao W.W., Lin C.F., Chou, S.T** 2002. Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, pp. 2454– 2458.
- Çaklı, Ş.,** 2008. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi 2. Ege Üniversitesi Yayınları, Su ürünleri Fakültesi yayın no: 77.
- Deraz S.,** 2014. Protein hydrolysate from visceral waste proteins of Bolti fish (*Tilapia nilotica*): chemical and nutritional variations as affected by processing pHs and time of hydrolysis, *Journal of Aquatic Food Product Technology*, (accepted manuscript).
- Eide O, Borresen T, Strom T.** 1982. Minced fish production from capelin (*Mallotus villosus*). A new method of gutting, skinning and removal of fat from small fatty fish species. *Journal of Food Science* 47 (1982), p. 354.
- Erdmann,K., Belinda W., Cheung, Y., Schröder, H.,** 2008. The possible roles of food derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *Journal of Nutritional Biochemistry* 19: 643–654
- FAO,** 2015. Global Production Statistics. Fisheries and Aquaculture Department.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Geirsdottir, M., Sigurgisladottir, S., Hamaguchi, P.Y., Thorkelsson, G., Johannsson, R., Kristinsson, H.G., and Kristjansson, M.M.** 2010. Enzymatic Hydrolysis of Blue Whiting (*Micromesistius poutassou*); Functional and Bioactive Properties. *Journal of Food Sciences*, 76 (1), doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01877.x
- Guerard F. Guimas L. Binet A.** 2002. Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. *Journal of Molecular Catalysis*. 19-20, 489-498.
- Halim N.R.A., Yusof H.M., Sarbon N.M.,** 2016. Functional and bioactive properties of fish protein hydrolysates and peptides: A comprehensive review. Elsevier, *Trends in Food Science and Technology* (51) pp. 24-44
- Imm, J. Y. and. Lee, C. M .,**1999. Production of Seafood Flavor from Red Hake (*Urophycis chuss*) by Enzymatic Hydrolysis. *J. Agriculture Food Chemistry*. 47, 2360- 2366.
- Klompong V., Benjakul S., Kantachote D., Shahidi S.,** 2007. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry* 102, 1317–1327.
- Kristinsson H.G., Rasco B.A.** 2000. Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(1):43–81.
- Lowry O.H. Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.** 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry* 193 (1), pp. 265–275.
- Muzaifa M., Safriani N., Zakaria F.,** 2012. Production of protein hydrolysates from fish by-product prepared by enzymatic hydrolysis. *International Journal of the Bioflux Society*. Vol. 5, issue 1. Pg. 36-39.
- Nalinanon, S., Benjakul, S., Kishimura, H., Shahidi, F.** 2011. Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. *Food Chemistry*, 124, 1354-1362.
- Nilsang, S. Lertsiri, S. Suphantharika, M. Assavani A.** 2005. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. *Journal of Food Engineering* 70, 571–578.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Nguyen H.T., Sylla B.S.K., Randriamahatody Z., Donnay-Moreno C., Moreau J., Tran T.L., Berge P.J.,** 2011. Enzymatic Hydrolysis of Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) By-Products Using Protamex Protease. *Food Technol. Biotechnol.* 49 (1) 48–55.
- Ovissipor, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R., Shahiri, H.** 2009. The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. *Food Chemistry*, Volume: 115, 238-242.
- Pearce K.N., Kinsella J.E.** 1978. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 26 (3) ,716-723.
- Raghavan, S.,and Kristinsson, H.G.** 2008. Antioxidative Efficacy of Alkali-Treated Tilapia Protein Hydrolysates: A Comparative Study of Five Enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1434–1441.
- Schubring, R.** 2002. Influence of freezing/thawing and frozen storage on the texture and colour of brown shrimp (*Crangon crangon*). *Archiv für Lebensmittel hygiene*. 53: 25-48
- Shahidi, F., Han X.-Q., Synowiecki J.** 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*), *Food Chemistry* 53 (3) , pp. 285–293.
- Shaviklo, G.R., Thorkelsson, G., Arason,S., Sveinsdottir, K.,** 2011. Characteristics of freeze-dried fish protein isolated from saithe (*Pollachius virens*). *J. Food Sci. Technol.* Online First February 2011.
- Slizyte, R., Rommi K., Mozuraityte R., Eck P., Five K.** 2016. Bioactivities of fish protein hydrolysates from defatted salmon backbones. Elsevier, *Biotechnology Reports* pp. 99-109.
- Tanuja S., Viji P., Zynudheen A.A., Joshy C.G.,** 2012. Composition, functional properties and antioxidative activity of hydrolysates prepared from the frame meat of Striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Egyptian Journal of Biology*, 2012, Vol. 14, pp 27-35.
- Theodore, A.E., Raghavan, S., Kristinsson, H.G.,** 2008. Antioxidative Activity of Protei Hydrolysates Prepared from Alkaline-Aided Channel Catfish Protein Isolates. *J. Agriculture Food Chemistry*, V olume: 56,7459-7466.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Thiansilakul Y., Benjakul B., Shahidi F.,** 2007. Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). *Food Chemistry*. 103, 1385–1394.
- Thiansilakul Y., Benjakul B., Shahidi F.,** 2007. Antioxidative Activity Of Protein Hydrolysate From Round Scad Muscle Using Alkalaz. *Journal of Food Biochemistry* 31, 266–287.
- TÜİK,** 2016. Su ürünleri İstatistikleri, ANKARA
- Valencia P., Pinto M., Almonacid S.,** 2013. Indantification of the key mechanisms involved in the hydrolysis of fish protein by Alkalaz. Elsevier, *Process Biochemistry* 49 (2014), pp 258-264
- Wasswa J., Tang J, Gub X.,Yuan X.,** 2007. Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chemistry*. 104, 1698–1704.
- Yen G.C., Wu J.Y.** 1999. Antioxidant and radical properties of extracts from *Ganoderma tsugae*, *Food Chemistry* 65 (3) , pp. 375–379.
- Yılmaz E., Tekinay A.A., Çevik N.,** 2006. Deniz Ürünleri Kaynaklı Fonksiyonel Gıda Maddeleri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, Cilt 23, sf. 523-527

ÖZGEÇMİŞ

4 Aralık 1989 tarihinde İzmir’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İzmir’de tamamladı. 2012 yılında Ege Üniversitesi Su Ürünleri Mühendisliği bölümünden mezun oldu ve aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümünde yüksek lisans eğitime başladı. Aynı zamanda Anadolu Üniversitesi İşletme bölümünden 2013 yılında mezun oldu. Halen Anadolu Üniversitesi’nde Lojistik bölümünde, İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İş Sağlığı ve Güvenliği bölümünde yüksek lisans eğitime de devam etmektedir.