

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ALABALIK VE MERSİN BALIĞI HAVYARLARININ PROTEİN
KARAKTERİZASYONU**

Caner ÇAKMAK

Yüksek Lisans Tezi

SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

İşletme Teknolojisi Bilim Dalı

ŞUBAT 2024

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

ALABALIK VE MERSİN BALIĞI HAVYARLARININ PROTEİN
KARAKTERİZASYONU

Tez Yazarı
Caner ÇAKMAK

Danışman
Prof. Dr. Ayşe GÜREL İNANLI

ŞUBAT 2024
ELAZIĞ

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Başlığı: Alabalık ve Mersin Balığı Havyarlarının Protein Karakterizasyonu
Yazarı: Caner ÇAKMAK
İlk Teslim Tarihi: 15.01.2024
Savunma Tarihi: 14.02.2024

TEZ ONAYI

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına göre hazırlanan bu tez aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından değerlendirilmiş ve akademik dinleyicilere açık yapılan savunma sonucunda OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Danışman:	Prof. Dr. Ayşe GÜREL İNANLI Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi	<i>İmza</i> Onayladım
Başkan:	Prof. Dr. Şengül BİLGİN Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi	Onayladım
Üye:	Prof. Dr. Naim SAĞLAM Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi	Onayladım

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun/...../20..... tarihli toplantısında tescillenmiştir.

İmza
Prof. Dr. Burhan ERGEN
Enstitü Müdürü

BEYAN

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım “Alabalık ve Mersin Balığı Havyarlarının Protein Karakterizasyonu” Başlıklı Yüksek Lisans Tezimin içindeki bütün bilgilerin doğru olduğunu, bilgilerin üretilmesi ve sunulmasında bilimsel etik kurallarına uygun davrandığımı, kullandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi, maddi ve manevi desteği olan tüm kurum/kuruluş ve kişileri belirttiğimi, burada sunduğum veri ve bilgileri unvan almak amacıyla daha önce hiçbir şekilde kullanmadığımı beyan ederim.

14.02.2024

Caner ÇAKMAK



ÖNSÖZ

Tarih boyunca kralların sofralarında yer alan ‘‘Havyar’’ günümüzde gastronomi ve mutfak sanatları alanında önemini korumaktadır. Havyar besin değeri yüksek ve ekonomik açıdan değerli bir üründür. Mersin balığı havyarında çiftlik balığı kaynaklı üretim artarken diğer türlerde de yetiştiricilik balıklarının yumurtalarından elde edilen havyar ticari anlamda büyük önem arz etmektedir. Günümüzde yüksek ticaret hacimlerine ulaşan bu ürünler içerisinde yer alan Gökkuşuğı Alabalığı ve Mersin balığından elde edilen havyarların protein karakterizasyonunun belirlendiğı bu çalışma bilimsel olarak önem arz etmektedir.

Yüksek lisans eğitimin boyunca bana yol gösteren, araştırmalarımın düzenlenmesi, gerçekleştirilmesi ve değerlendirilmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen, olumlu tavırlarıyla beni cesaretlendiren, bilgi birikimiyle çalışmama farklı açılardan bakmamı sağlayan, çalışmalarımı ışık tutan kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Ayşe Gürel İNANLI ‘ya çok teşekkür ederim. Çalışmamda için her türlü imkanı sunan Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi’ne teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca çalışmada laboratuvar çalışmalarım sırasında destek ve katkılarından dolayı Doç. Dr. Semih DALKILIÇ’a teşekkürlerimi sunarım. Beluga havyarını bize ulaştıran AyFish Firması’na da çok teşekkür ederim. Son olarak, hiçbir zaman hakkını ödeyemeyeceğim her zaman ve her koşulda yanımda olan beni büyüten ve bugünlere gelmemde en büyük emeğe sahip olan kıymetli Anneme-Babama, aynı şekilde her zaman desteğini hissettiğim kıymetli eşime şükranlarımı sunarım.

Caner ÇAKMAK
ELAZIĞ, 2024

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Havyar	3
2.2. Havyar Çeşitleri.....	5
2.3. Havyarın Besin Değeri	7
3. MATERYAL VE METOT.....	9
3.1. Materyal.....	9
3.2. Metot	10
3.2.1. Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) Analizi	11
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	16
5. SONUÇLAR.....	21
KAYNAKLAR	22
ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

Alabalık ve Mersin Balığı Havyarlarının Protein Karakterizasyonu

Caner ÇAKMAK

Yüksek Lisans Tezi

FIRAT ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı

Şubat 2024, Sayfa: x + 24

Havyar besin değeri yüksek ve ekonomik açıdan değerli bir üründür. Mersin balığı dışındaki balıkların yumurtaları işlense bile bu ürünler havyar diye doğrudan nitelendirilmez ve en popüler ve beğenilen havyar türleri ise Mersin balığından üretilmektedir. Havyar besin değeri yüksek ve ekonomik açıdan değerli bir üründür.

Bu çalışmada Keban Baraj Gölü'nde aktif halde olan bir yetiştiricilik tesisinden temin edilen Gökkuşluğu Alabalık (*Onchorhynchus mykiss*) ve ticari bir firmadan alınan Mersin balığı (*Huso huso*) havyarlarının protein karakterizasyonu yapılarak SDS-PAGE analizinde majör protein grupları belirlenmiştir. Çalışmada Beluga havyarı için 180-15 kDa arasında belirgin 16 adet protein bantları belirlendi. Bu çeşitlilik, çalışmamızda incelenen Beluga havyarının protein çeşitliliği bakımından kalitesini ortaya koymaktadır. Gökkuşluğu alabalığı havyarı elektroforetik profilinde ise (10-180 kDa) oluşan 100-60 kDa arasında belirgin protein bantları ve 180-100 kDa ve 60-45 kDa arasında küçük bantlar belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Havyar, *Onchorhynchus mykiss*, Beluga, *Huso huso*, Protein karakterizasyonu

ABSTRACT

The Protein Characterization of Trout and Sturgeon Caviars

Caner ÇAKMAK

Master's Thesis

FIRAT UNIVERSITY

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Fisheries and Processing Technology

February 2024, Pages: x + 24

Caviar is a product with high nutritional value and economically valuable. Even if the eggs of fish other than sturgeon are processed, these products are not directly considered caviar, and the most popular and appreciated types of caviar are produced from sturgeon. Caviar is a product with high nutritional value and economically valuable.

In this study, protein characterization of Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*) caviar, obtained from an active aquaculture facility in Keban Dam Lake, and Sturgeon (*Huso huso*) caviar, obtained from a commercial company, was performed and major protein groups were determined in SDS-PAGE analysis. In the study, 16 distinct protein bands between 180-15 kDa were determined for Beluga caviar. This diversity reveals the quality of Beluga caviar examined in our study in terms of protein diversity. In the electrophoretic profile of rainbow trout caviar, distinct protein bands between 100-60 kDa (10-180 kDa) and small bands between 180-100 kDa and 60-45 kDa were detected.

Keywords: Caviar, *Onchorhynchus mykiss*, Beluga, *Huso huso*, protein characterization

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Havyar ve havyar çeşitleri ile bazı özellikleri.....	6
Şekil 3.1. Beluga havyar	9
Şekil 3.2. Gökkuşığı alabalığı yumurtaları ve kırmızı havyar	10
Şekil 3.3. İzole edilmiş havyar proteinleri	11
Şekil 3.4. Protein belirteci.....	13
Şekil 3.5. SDS-PAGE jel sistemi	14
Şekil 4.1. Gökkuşığı alabalık havyar protein profillerinin SDS-PAGE analiz görüntüsü.....	18
Şekil 4.2. Gökkuşığı alabalık havyar protein profillerinin SynGene® Görüntüleme sisteminde alınan farklı filtrelerdeki ve 3D görüntüleri	18
Şekil 4.3. Beluga havyar protein profillerinin SDS-PAGE analiz görüntüsü	20
Şekil 4.4. Beluga havyar protein profillerinin SynGene® Görüntüleme Sisteminde alınan farklı filtrelerdeki ve 3D görüntüleri	20

TABLolar LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Farklı mersin balığı ve bazı balık türleri havyarlarının besin bileşimi.....	7
Tablo 3.1. SDS-PAGE jeli hazırlanırken kullanılan tampon ve solüsyonların içeriğı	12
Tablo 3.2. SDS-PAGE jeli bileşenleri ve miktarları.	13



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

kDa	: Kilo dalton
A	: Amper
V	: Volt
μ l	: mikrolitre
ω -3	: Omega 3
ω -6	: Omega 6

Kısaltmalar

MÖ	: Milattan önce
AB	: Avrupa Birliği
SDS-PAGE	: Sodium Dodecyl Sulfat Polyakrilamide Gel Elektroforez
DTT	: Ditiotretiol
TEMED	: N, N, N, N tetramethylethylenediamine

1. GİRİŞ

Temel insan ekonomik faaliyetleri, giyim ve beslenme, insanın yaşadığı coğrafya ile doğrudan ilişkilidir. Ancak farklı bölgeler arasında gelişen ticaret, bölge ekonomisini ve toplumun kültürel yaşamını etkileyen önemli bir faktördür. Bu bağlamda balıkçılık ve balık ticareti, tarih boyunca Karadeniz insanının beslenmesinde ve ekonomik faaliyetlerinde önemli rol oynamıştır. MÖ 4. yüzyılda Herodot, Karadeniz'e dökülen en büyük nehirlerden biri olan Dinyeper'da avlanarak havyar çıkarılan Boristhenes adlı dev bir mersin balığına değinmiştir [1].

“Havyar” tek başına kullanıldığında sadece mersin balığı yumurtalarının işlenmiş halini tanımlanmaktadır. Günümüzde de gastronomide önemli olan havyar, tarih boyunca kralların sofralarında yer almıştır [2]. Havyar, genel olarak dünyanın farklı balıklardan yapılan ve farklı isimler alan lezzetli ve ticari olarak değerli bir gıda olan balık yumurtasını ifade eden bir terimdir. "Havyar" kelimesinin kökeni hakkında çeşitli teoriler vardır, ancak sözlükler havyarı " tuzla hazırlanmış ezme durumunda, balık (daha çok mersin balığı) yumurtası" olarak tanımlar. Bir teoriye göre Avrupa dillerine Türkçe'den yayıldığı söylenen havyar kelimesinin kökeni dilbilimciler tarafından farklı değerlendirilmiştir [2], [3]. Tuzlanmış balık yumurtası Türkçe'de 'havyar' olarak adlandırılırken; İtalyanca'da 'caviale', Fransızca ve İngilizce'de ve 'caviar', Rus dilinde 'ikra' olarak isimlendirilmektedir. Havyar hassas bir ürün olarak kabul edilir. Türkiye'de balık yumurtalarının işlenmesi çok sınırlıdır. Bunun nedeni, geleneksel olarak pişirilen balık yumurtasının istenilen bir tada sahip olmaması ve çok pahalı ürünlerden biri olmasıdır [4], [5]. Yumurtaların tuzlanması havyar üretimidir. Havyar üretiminde tuzlamanın yanı sıra sucuk yapımı, dondurma, tütsüleme ve konserveleme teknikleri de kullanılmaktadır. Havyar üretimindeki küçük hataların bile kalite üzerinde büyük etkisi vardır. Kaliteli havyar elde etmek için yumurtaların alınması ve yıkanması gibi her işlemde dikkatli ve titiz bir çalışma gerekmektedir. Havyar hazırlayan kişilerin deneyimi havyarın kalitesini doğrudan etkiler [6].

Dünyada uzun süredir talep gören mersin balığı havyarının tüketimi yıllık 3000 ton civarında olup talebin devam etmesi beklenmektedir. Son 10 yılda özellikle havyarın en büyük üreticisi ve tüketicisi Rusya, İran, AB ülkeleri, Çin, ABD ve birçok ülkede girişimciler Mersin balığı yetiştiriciliğine yönelmiştir [7].

Beluga havyarı *Huso huso* yumurtalarından yapılan havyardır. Ağzda dağılan bir yapıya ve balıksı bir tada sahiptir. Tane boyutu diğerlerinden daha büyüktür. En değerli ve pahalı havyar türlerinden biri olup daha hafif çeşitler en zengin tada sahiptir ve Mersin balıklarından hasat edilir, bu da onları daha fazla talep eder hale getirir. Beluga havyarın en nadide formu, koyu ve açık gri tonlarında olup çok zengin bir tada sahiptir [4], [5].

Su ürünleri tüketiminde işlenmiş balık yumurtası besin bileşimi ve gastronomik özellikleri bakımından tüketici nezdinde talep gören besin kaynaklarından biridir. Geleneksel işlenmiş balık yumurtalarından yapılan ürünler (mersin havyarı, mumlu kefal yumurtası, tuzlanmış turna ve sazan yumurtaları vs.) dünyada olduğu gibi Türkiye’de de (ağırlıklı kıyı şeritlerinde) katma değeri yüksek ve gurme tercihler nezdinde tüketimi olan gıda maddeleridir [8].

Yetiştiriciliği yapılan, yumurtaları en çok işlenen *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* ve *Oncorhynchus mykiss* balıklarıdır. Bu balıklardan elde edilen havyar “Ikura” adı altında Rusya ve Japonya’da tercih edilen ürünlere dönüşmüştür [9].

Bu çalışmada Keban Baraj Gölü’nde aktif halde olan bir yetiştiricilik tesisinden temin edilen Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve İran’da mevcut havyar üretimi yapan firmadan alınan Beluga havyarlarının (*Huso huso*) Sodium Dodecyl Sulfat Polyakrilamide Gel Elektroforez (SDS-PAGE) analizi ile protein karakterizasyonu belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Havyar

Tarihte uzun bir süre sadece halk tarafından tüketilen havyar, Rus imparatoru ve İran Şahı tarafından diğer kral ve sultanlara değerli bir hediye olarak takdim edilmiştir. Havyarın 16. ve 17. yüzyıllarda Osmanlı saraylarında da tüketildiğine dair kayıtlar bulunmaktadır [2]. Havyar, dünya çapında "iyi yemek" kavramına nüfuz etmiş ender lezzetlerden biridir. Havyar terimi özellikle Mersin balığının (*Acipenseridae*) işlenmiş yumurtasını tanımlamak için kullanılır, ancak piyasada diğer işlenmiş yumurtaların bulunabileceği gibi 'havyar' kelimesinin başında balığın adı gelir. Tek başına kullanıldığında, "havyar" yalnızca mersin balığı yumurtalarının işlenmiş şeklini ifade eder. Çeşitli deniz ürünlerinden (balık, ıstakoz eti, deniz yosunu ve bunların karışımları) havyar taklitleri de yapılır. Ayrıca birçok biyolojik materyalden ve sadece tat, şekil olarak havyarı andıran yapay (suni) havyar da üretilmektedir [10].

Tarih boyunca "imparatorun yemeği" olarak anılan havyar, Osmanlı saraylarının sofralarında özellikle sabah kahvaltılarında sunulmuştur. Havyar ağırlıklı olarak meze şeklinde genellikle alkollü içecekler ile ayrıca spagetti ve salatalar gibi gastronomik olarak farklı sunum teknikleri ile ziyafetlerde kullanılan lüks bir yiyecek kategorisindedir [2].

"Havyar" olarak bilinen mersin balığı yumurtası, dünya gıda pazarındaki en değerli lezzetlerden birini temsil etmektedir. 1997 yılı itibarıyla tüm mersin balığı türleri Nesli Tehlike Altında Olan Türlerin Uluslararası Ticaretine İlişkin Sözleşme'nin (CITES) Ekleri kapsamına alınmıştır. O zamandan beri mersin balığı türlerinin tanımlanması önem kazanmıştır [11]. 2010 yılında kabul edilen mersin balığı havyarı standardı [12], havyarın *Acipenseridae* familyasına ait kaliteli tuzla işlenmiş balık yumurtalarından yapılan bir ürün olduğunu belirtir. Ticari ürünlerin etiketlenmesine ilişkin olarak, "havyar" terimi yalnızca mersin balığı yumurtaları için kullanılmalı ve etiketler, *Huso huso* için Beluga, *Acipenser gueldenstaedtii*/A için Ossetra gibi türün ortak adını içermelidir. Ayrıca, havyar ürünleri yalnızca yukarıda bahsedilen gerçek havyarı değil, aynı zamanda diğer balık türlerinin veya diğer hayvansal organizmaların yumurtalarından elde edilen havyar ikamelerini ve balık yumurtası izi taşımayan ancak havyarın tadını taklit eden "havyar" adı verilen diğer çeşitli ürünleri de içerir [13].

Havyar besin değeri yüksek ve ekonomik açıdan değerli bir üründür. Mersin balığı dışındaki balıklarında yumurtaları işlense bile bu ürünler havyar diye doğrudan nitelendirilmez ve en popüler ve beğenilen havyar türleri ise Mersin balığından üretilmektedir ve orijinal havyar olarak kabul edilmektedir. Günümüzde yüksek ticaret hacimlerine ulaşan bu ürün sıkı yasal kontrollerle satılmaktadır. Havyar üretiminde mersin balığı türlerinde stokların korunmasına yönelik uygulamalar tüm dünya ülkelerince genel kabul görmüştür. Mersin balığı havyarında

çiftlik balıklarından gelen üretim artarken diğer türlerde de yetiştiricilik balıklarının yumurtalarından elde edilen havyar ticari anlamda büyük önem arz etmektedir. Tabii ki, çeşitli havyar türlerinin fiyatları önemli ölçüde farklılık göstermektedir; yalnızca gerçek havyar, lüks, yüksek fiyatlı bir ürün olarak kabul edilir. Mersin balığı popülasyonundaki ciddi azalma ve havyar ürünlerine yönelik küresel talebin artması nedeniyle gerçek havyarın sınırlı üretimi, bir yandan su ürünleri yetiştiriciliğinde Mersin balığı ve havyar üretiminin artmasına, diğer taraftan da havyar ikamelerinin kullanılmasına yol açmıştır. Avrupa Birliği (AB)'nin, 2016 yılında AB ithalatının %85'ini oluşturan Çin gibi ihracatçı ülkelerinden dünyanın en büyük havyar ithalatçısı olması nedeniyle Avrupa ülkeleri bu sorunla özellikle ilgilenmektedir [13].

Havyar, dünya çapında pahalı lüks bir meze olarak tüketilmektedir. Havyar, başta yüksek maliyetli, tuzlu, cevizimsi ve tatlı tadı olmak üzere birçok nedenden dolayı kendine hastır. Geçtiğimiz 30 yılda, doğal mersin balığı popülasyonları önemli ölçüde azalıp havyar talebinin artması, havyar üretimi için Mersin Balığı yetiştiriciliğinin geliştirilmesine yol açmıştır. Havyar, balıktan tabağa kadar uzun bir prosedürden geçer. Beluga, Sterlet, Kaluga, Ossetra, Sibirya Mersin Balığı ve Sevruga, Hazar Denizi'ne özgü mersin balığı türleri tarafından üretilen havyarın en popüler çeşitleridir. Tipik olarak vakumla kapatılmış kaplarda satılan birinci sınıf havyar, açılmadan 2-4 hafta dayanır. Havyar her zaman "ayrıcalıkların yemeği" olmuştur ve buna da uygundur. İnci büyüklüğündeki taneler ağızda patlar ve balık tadındadır [14].

Havyar, oldukça hassas bir ürün olarak kabul edilir ve özellikle günümüzde yüksek gastronominin vazgeçilmez bir parçası olmuştur. Çiğneme esnasında havyar algısı, iyi tanımlanmış zaman dizilerinde farklı duyular verir. İlk izlenim, yumurtaların pürüzsüz yüzeyidir. Kümelenmiş yumurtalar, dil ve damak arasında çok küçük kuvvetlerle itilebilir. Havyar artan bir kuvvetle patlar ve tat-aroma bileşiklerini serbest bırakarak tüm duyuşal zevki verir [15]. Balıkların yumurtaları boyut olarak farklıdır. Ayrıca bileşimleri ve morfolojileri açıdan da farklılık gösterirler [16].

Havyar, renk, menşei, işleme tekniği ve elde edildiği balık türüne göre farklı şekillerde isimlendirilebilmektedir. Genel olarak mersin balığından üretilen havyar, siyah havyar olarak bilinmektedir ve bilinen en değerli ve pahalı havyardır. Elde edildiği mersin balığı türlerine göre de farklı şekilde sınıflandırılması yapılabilmektedir [2], [17], [18].

Alabalık yumurtalarının işlenmesi mersin balığı türlerinin korunmasına yönelik bir faaliyet olarak değerlendirilmekte ve bu işleme elde edilen ürün mersin balığından elde edilen havyara göre daha erişilebilir bir arza yardımcı olmaktadır [8]. Alabalıktan yapılan işlenmiş yumurta ürünleri, bölgesel üreticiler için ekonomik açıdan daha ucuz ve karlı olduğundan ürün çeşitliliğinin oluşumuna da katkı sağlamaktadır. Bazı kaynaklarda işlenmiş alabalık yumurtalarının mersin balığı havyarıyla mukayesesinde tane büyüklüğü bakımından daha büyük ve tat-koku bakımından daha lezzetli olduğu da belirtilmektedir. Salmonidae familyasından elde

edilen bu ürünlerin renk skalası balığın beslenmesine bağlı olarak sarıdan-kırmızıya (somon rengi dahil) kadar değişik varyasyonlar sunmaktadır. Bu çeşitlilik ve son yıllardaki bu ürünlerin piyasalardaki arzı tüketici grupları tarafından benimsenmesine ve tüketim artışına katkı sağlamaktadır.

2.2. Havyar Çeşitleri

Toplam 27 mersin balığı türü vardır. Uluslararası pazarda mersin balığı (*Acipenser* ve *Huso*) ve kürek balığı (*Polyodon* ve *Psephurus*) arasında sadece yaklaşık 20 türden tuzlanmış havyar havyar olarak satılmaktadır [19]. Mersin balığından üretilen başlıca havyar türleri şunlardır [2], [14] :

- Beluga havyarı,
- Ossetra havyarı (Rus havyarı),
- Sevruga havyarı,
- Kaluga havyarı,
- Sterlet havyarı,
- Amerikan mersin balığı havyarı (Beyaz mersin balığı),
- Sibiryaya mersin balığı havyarı,
- İran havyarı,
- Kürek burunlu mersin balığı havyarı.

Beluga havyar: Mersin balığı türü *Huso huso* yumurtalarından üretilen en iyi havyar çeşididir. Rengi inci grisinden koyu mora kadar olan bu çeşit havyarın balık kokusu yoktur [14]. Diğerlerine nazaran daha iri tanelidir. Ağızda eriyen bir dokuya sahip ve balığa yakın bir tada sahiptir. Tane iriliği ise diğerlerine göre daha büyüktür. Mersin balığı havyar türlerinin içerisinde en beğenilen, talep gören en pahalı olanıdır. En zengin tada sahip oldukları ve en yaşlı mersin balığından geldikleri için diğer çeşitlerden daha çok aranır. Beluga, Mersin balığı havyarının en nadir şeklidir [2,16]. Havyar tüketimi geçmişte olduğu gibi bugün de itibar ve sosyal statü göstergesi olarak kabul edildiğinden, en değerli olan Beluga havyarı kg başına 10.000 Euro fiyatla satışa sunulmaktadır [17].

Ossetra: *A. gueldenstaedtii* türünden elde edilen havyardır. Balık yaşlandıkça yumurtalar koyu altından açık amber rengine döner ve üretilen havyarın hoş "cevizimsi ve kremi" bir tadı olur. Ossetra havyarı da değerli ve pahalı havyar türlerinden biri olup fiyatı Beluga havyardan biraz düşüktür. 50 yıla kadar yaşayabilen *A. gueldenstaedtii*'nin ağırlığı da 50 - 400 kilogram arasında değişir. Golden Ossetra, Ossetra havyarının nadir görülen bir şeklidir ve altın sarısı ve yeşil

renkte olup çok zengin bir tada sahipti . [2], [8]. Şefler ve mutfak uzmanları Ossetra'yı beğenerek farklı şekillerde sunarlar [14].

Sevruga: *A. stellatus* balığı yumurtalarının işlenmesi ile elde edilen gri-siyah renğinde olan havyar ince ve küçük taneli olup çok lezzetlidir [2], [19]. Sevruga'nın elde edildiği Mersin balığı (*A. tellatus*)'nın nesli tükenmektedir. Beluga ve Ossetra daha pahalı olmasına rağmen Sevruga havyar da ucuz değildir. Ancak boyut ve renk Sevruga havyarını sınıflandırır ve daha büyük taneler havyarı daha iyi hale getirir [14].

Sterlet: Bu havyar *A. ruthenus* yumurtalarından elde edilir. Taneleri küçük ve rengi siyahımsıdır [2,17]. *A. ruthenus* havyarı, çok nadir olması nedeniyle genellikle yanlış etiketlenir ve Sevruga (*A. stellatus*) olarak satılır. Yasadışı olmasına rağmen, yanlış etiketleme yaygındır.

Kaluga: Çin'deki Amur ve Liman Nehirlerinde olan yırtıcı bir mersin balığı türü *Huso dauricus*'dan üretilen havyar tipidir. En büyük mersin balığı türlerinden biri olup. Genellikle Kaluga olarak bilinen havyar Beluga'yı andırmaktadır. Kaluga *A. gueldenstaedtii* genç bireylerinin yumurtalarına benzer ve % 6 tuz ile işlenmektedir [2], [14].

Sibirya havyarı Kraliyet Sibirya Havyarı da denilen bu tip havyar, Sibirya mersin balığı (*Acipenser baerii*) yumurtalarından elde edilir. Saf, tadı hafif ve hem ince hem de berrak olan enfes uzunluğu ile tanınan ince taneli bir havyardır [20].

Havyar ve havyar çeşitleri ile bazı özellikleri Şekil 2.1'de özetlenmiştir.



Şekil 2.1. Havyar ve havyar çeşitleri ile bazı özellikleri [20]

2.3. Havyarın Besin Değeri

Farklı balıkların yumurtaları esas olarak boyut ve morfolojileri bakımından farklılık gösterdiği gibi bileşimleri açıdan da farklılık gösterir. Balık yumurtaları yüksek oranlarda lipid ve protein içerir. Ortalama olarak balık yumurtası %16-30 protein içeriğine ve %5-20 yağ, % 2 mineral madde içeriğine sahiptir. Tüm balık yumurtaları farklı kimyasal bileşime sahiptir [2], [9].

Yapılan çalışmalarda farklı Mersin balığı türlerine ve bazı balık türlerine ait havyar çeşitlerinin besin bileşimi belirlenmiştir. Bu araştırmalar sonucu elde edilen bulgular Tablo 2.1'de sunulmuştur.

Tablo 2.1. Farklı mersin balığı ve bazı balık türleri havyarlarının besin bileşimi (g/100 g)

Balık/Havyar	Ham protein	Lipit	Nem	Kül	Karbonhidrat	Enerji (KJ/100g)	Kaynak
Beluga	24,7	15,9	48,4	4,1	6,9	1330	[21]
Sevruga	24,2	14,7	51,5	4,2	5,4	1240	[21]
Ossetra	24,0	14,6	52,0	4,8	5,4	1220	[21]
Somon	31,8	11,0	49,30	1,9	-	-	[9]
Gökkuşluğu alabalığı	26,5	7,74	61	1,96	-	187	[22]

Balık yumurtasının kimyasal bileşimini etkileyen en önemli faktörler; balık türü, yumurta durumu ve olgunluğu, hasat zamanı ve alanıdır [2], [9], [15]. Havyar ayrıca yüksek miktarda doymamış yağ asitleri içerir. Havyardaki ana yağ asidi oleik asittir ve içeriği %32,9-42,6 arasında değişir. Mersin balığı havyarındaki çoklu doymamış yağ asitleri ω -3'ün oranı, çoklu doymamış yağ asitleri ω -6'dakinden üç kat daha yüksek bulunmuştur.

Protein, havyar ve balık yumurtasının bir diğer ana bileşenidir. Genel olarak balık yumurtasında ortalama %75 ovoglobulin, %13 kollajen ve %11 albümin bulunur. Balık yumurtası ayrıca güçlü bir antibakteriyel madde olan lizozim içerir [15]. Gong ve ark.[23], havyar örneklerinin ham protein içeriğinin yaş ağırlığının %24,0 ile %25,6'sı arasında değiştiğini göstermiştir. Glutamik asit (aslında analitik sorunlardan dolayı glutamin ve glutamik asit karışımı) en bol bulunan amino asit (%7,29-7,69) olarak tanımlanmıştır. Mol ve Turan [21], Beluga, Sevruga'daki ana amino asitler olarak glutamik asit, aspartik asit (aynı zamanda aspartam ve aspartik asit), lizin ve serini tanımlamıştır.

Havyar ve havyar ikameleri ayrıca mineraller, özellikle kalsiyum, demir, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, bakır ve çinko açısından da zengindir. Bu ürünler aynı zamanda yüksek düzeyde vitaminler, özellikle D3 vitamini veya kalsiferol içerir. Bunun nedeni balıkların büyük miktarda D2 ve D3 vitamini içeren çeşitli plankton türleri ile beslenmesidir [20].

Yapılan bir yüksek lisans tezinde [24] Köyceğiz Dalyanı (Muğla)'ndan yakalanan kefal türlerinin ve havyarlarının kimyasal kompozisyonu ve kalitesi belirlenmiştir.

Wirth vd. [25], doğal ve çiftlik mersin balıklarının yumurtalarından elde edilen havyarın bileşimini incelemiş; sonuçta protein miktarını %26,2 ile %31,1 ve yağ miktarını ise %10,9 ile 19,4 arasında belirlemişlerdir.

Al-Holy ve Rasco [26], Somon (*Oncorhynchus keta* ve Mersin balığı (*A. transmontanus*) havyar proteinlerinin karakterizasyonunu belirledikleri bir çalışma yapmışlardır.

Pappalarado vd. [13], havyar ticaretinde sahtekarlığı tespit etmeye yönelik yaptıkları bir çalışmada; farklı sekiz balık türüne ait havyarlar incelenmiştir. Bu alışmada *Acipenser transmontanus* , *A. gueldenstaedtii* , *A. stellatus* , *A. baerii* , *Mallotus villosus* , *Huso huso* , *Cyclopterus lumpus* ve *Eumicrotremus orbis*. kaynaklı incelenen havyar ürünlerini ayırt eden spesifik profiller ortaya konulmuştur.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmamızda kullanılan Beluga havyar (Şekil 3.1), Keban Baraj Gölü'nde ideal koşullar altında Mersin balığı (*H. huso* ve *A. guldenstadti*) yetiştiren AyFish Su Ürünleri Sanayi Ticaret Ltd. Şti. firması tarafından İran'da Royal Caviar Şirketi'nden temin edilerek tarafımıza soğuk muhafaza altında ulaştırılmıştır. Temin edilen Beluga havyarının çekilmiş fotoğrafları Şekil 3.1'de sunulmuştur.



Şekil 3.1. Beluga havyar

Gökkuşığı alabalığı yumurtaları ise yine Keban Baraj Gölü'nde faaliyet gösteren PELİCAN Su Ürünleri Gıda Sanayii Ticaret A.Ş.'den temin edilerek hijyenik koşullarda ve soğuk ortamda Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojisi Laboratuvarına getirilmiş ve hemen işlemeye tabii tutulmuştur. Gökkuşığı alabalığı yumurtaları % 3 oranında kuru tuzlanarak işlenmiştir. Araştırmada kullanılan Gökkuşığı alabalığı yumurtalarının çekilen fotoğrafları Şekil 3.2'de sunulmuştur.



Şekil 3.2. Gökkuşığı alabalığı yumurtaları ve kırmızı havyar

3.2. Metot

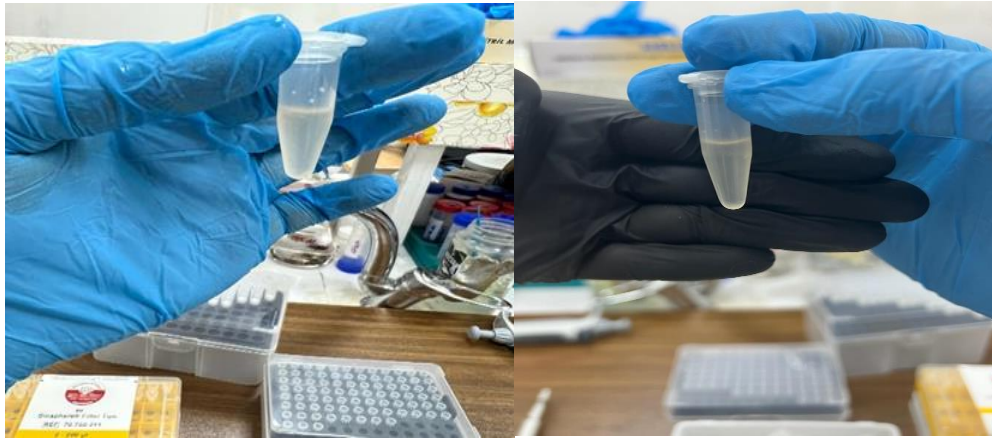
Çalışmada Gökkuşığı Alabalığı ve Mersin Balığı'ndan elde edilen havyarların protein karakterizasyonunu belirlemek amacıyla Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel

Electrophorez (SDS-PAGE) analizi Fırat Üniversitesi Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophorez (SDS-PAGE) Analizi

Çalışmada incelenecek örnekler, başlangıçta buz üzerinde bulunan falkon tüplere alınarak her bir örnek için tüp başına 1 ml Ripa Lysis Buffer eklenmiştir. Ardından, buz üzerinde sonikatör yardımıyla homojenizasyon işlemi yapılmıştır. Elde edilen homojen karışım, 2 ml'lik ependorf tüplere transfer edilmiş ve her birine 500 µL Ripa Lysis Buffer eklenerek tekrar homojenize edilmiştir. Bu aşamadan sonra örnekler, 3.000 g'de 5 dakika boyunca 4 °C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında, üst tarafta biriken yağ tabakası örneklerden arındırılmıştır. Bu işlem, bir kez daha 3.000 g'de 5 dakika süreyle 4 °C'de tekrarlandı ve ardından üstte biriken yağ tabakası alınmıştır. Bu adımlar, toplam üç kez tekrarlanmıştır. Son olarak, örnekler, daha fazla ayrıştırma için 15.000 g'de 1 saat boyunca 4 °C'de son bir santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Bu aşamanın ardından, ependorf tüpün orta kısmında bulunan protein, yeni bir falkon tüpe alınmıştır [26]–[28]. Bu aşamalar ile ilgili bazı resimler Şekil 3.3'te sunulmuştur. Örneklerin izole edilmiş protein konsantrasyonları şu şekildedir:

1. Örnek: 28,678 mg/ml
2. Örnek: 29,070 mg/ml
3. Örnek: 27,953 mg/ml
4. Örnek: 30,087 mg/ml
5. Örnek: 25,125 mg/ml
6. Örnek: 26,440 mg/ml



Şekil 3.3. İzole edilmiş havyar proteinleri

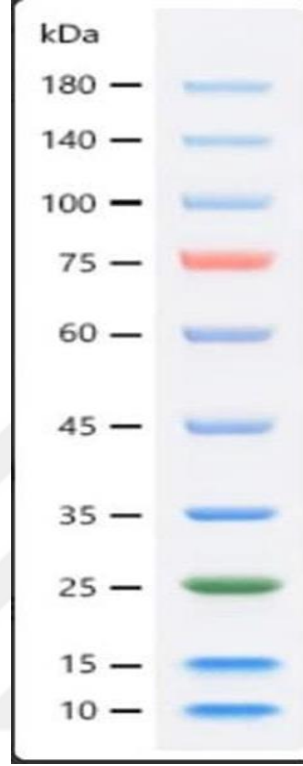
Jel hazırlama

Çalışmada öncelikle SDS-PAGE analizinde kullanılacak jel içeriği için gerekli tampon ve solüsyonlar hazırlanmıştır. SDS-PAGE jeli hazırlanırken kullanılan tampon ve solüsyonlar aşağıda Tablo 3.1’de sunulmuştur.

Tablo 3.1. SDS-PAGE jeli hazırlanırken kullanılan tampon ve solüsyonların içeriği

%10 SDS	Miktar
SDS	10 g
dH ₂ O	100 ml
%30 Acrylamide-Bisacrylamide	
Acrylamide	29 g
Bisacrylamide	1 g
dH ₂ O	100 ml
%10 Ammonium Persulphate (APS)*	
APS	0,1 g
dH ₂ O	1 ml
*Bu solüsyon her defasında taze olarak hazırlandı	
Tank Buffer (Tris-glisin buffer)*	
Glycine	14,4 g
Tris base	3,03 g
% 10 SDS	10 ml
dH ₂ O	985 ml
*Bu karışım pH 8,3’e ayarlanarak +4 °C’de muhafaza edildi	

Jelin formasyonunu sağlamak için TEMED (N, N, N, N tetramethylethylenediamine) (Invitrogen®, 17919), moleküler ağırlık markeri olarak da 10-180 kDa protein belirteci (ABclonal®, ABD) kullanılmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Protein belirteci

Analiz için gerekli tampon ve solüsyonlar hazırlandıktan sonra SDS-PAGE jelleri Tablo 3.2’de sunulan bileşen ve oranlara göre hazırlanmıştır.

Tablo 3.2. SDS-PAGE jeli bileşenleri ve miktarları.

İçerik	Ayırma Jeli (%12)	Stok Jeli (%5)
%30 Acrylamide-Bisacrylamide	6000 µl	533 µl
1.5 M Tris-HCl	3900 µl	-
1 M Tris-HCl	-	520 µl
%10 SDS	150 µl	40 µl
%10 APS	150 µl	40 µl
dH₂O	4800 µl	2867 µl
TEMED	15 µl	4 µl

Araştırmada SDS-PAGE analiz aşamalarının gerçekleştirildiği sistem (Bio-Rad Laboratories Inc., Richmond, CA) Şekil 3.5'te sunulmuştur. Jel sisteminin cam plakları alkol ile yıkanıp kurulandıktan sonra sızdırma yapmayacak şekilde jel dökme aparatına yerleştirilmiştir.



Şekil 3.5. SDS-PAGE jel sistemi

Yukarıda açıklandığı gibi hazırlanan %12'lik ayırma jeli cam plakların alttan 2/3'lük kısmına kadar pipet yardımı ile ilave edilmiştir. Jelin pürüzsüz ve düz bir şekilde polimerize olması ve hava ile temasının kesilmesi için jelin üzerine yaklaşık 1 ml kadar isopropanol eklenip oda ısısında polimerizasyona bırakıldıktan sonra yaklaşık 30 dk sonra jel polimerleşmesi beklenmiştir. Stok jel hazırlandıktan sonra polimerize olmuş separasyon jelinin üzerindeki propanol atılıp birkaç kez distile su ile yıkandıktan sonra kurutma kağıdı yardımıyla kalan distile su kurutulmuştur. Üzerine stok jeli dökülüp 8 kuyucuklu tarak jele yerleştirildikten sonra 30 dk polimerleşme için oda ısısında bekletilmiştir.

Jele örnek yükleme

Analiz için uygulanan adımlar şu şekildedir:

İlk olarak, 1.5 ml'lik ependorf tüpler etiketlendi ve her birine 1/5 oranında seyreltilmiş 10 µl protein örneği transfer edilmiştir. Daha sonra, her tüpe 4 µL SDS-PAGE Sample Loading Buffer ve 6 µL DTT eklenerek homojen bir karışım elde edildi. Örnekler, 5 dakika boyunca 90°C'de inkübasyona bırakılmıştır.

Jel elektroforezi için hazırlık aşamasında, jel üzerine proteinlerin ayrışmasını görmek amacıyla ilk ve son kuyucuğa 10 µL protein belirteci eklendi. Kalan kuyucuklara ise sırasıyla 10

μL havyar protein örnekleri yüklenmiştir. Jel, ilk 15 dakika boyunca 80 V ve 0.4 A, ardından kalan 1.5 saat boyunca ise 120 V ve 0.4 A'de yürütülmüştür.

Elektroforez işlemi bittikten sonra cam plakalardan çıkarılan jel, Coomassie blue boyama amacıyla SDS-PAGE ile yürütülen jel temiz plastik bir kaba ve üzerine fiksasyon solüsyonu (%40 dH₂O, %10 asetik asit, %50 methanol) eklenmiştir. Daha sonra 45 dk boyunca 37 °C'ye ayarlanmış etüvde düşük devirde inkübe edilmiştir. Ardından jel üzerinden fiksasyon solüsyonu uzaklaştırılmıştır. Jel üzerine 20 ml Coomassie blue solüsyonu (%40 dH₂O, %10 asetik asit, %50 methanol, %0,25 Coomassie Brilliant Blue R-250) eklenmiştir. Kabin ağzı folyo ile kapatılıp, 37 °C'ye ayarlanmış etüvde düşük devirde gece boyu inkübe edilmiştir. Son olarak boyada çıkartılan örnekler 3-6 saat süreyle boya giderici solüsyonunda (%67,5 dH₂O, %7,5 asetik asit, %25 methanol) bekletilmiş ve rengi yeterince açılan SDS-PAGE jeli, protein varlığı yönünden incelenmiştir [26], [29], [30].

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Günümüzde, su ürünlerinin kimlik doğrulaması konusundaki bilimsel literatürler, biyomoleküler teknikler, işlenmiş su ürünlerinde tür tanımlamasını büyük ölçüde geliştirebileceğini göstermiştir [13].

Havyar türlerini belirlemek için ileri analitik yöntemlerin kullanılması gerekir. İşleme sırasında balık türlerinin ve/veya ürünlerinin morfolojik özellikleri değiştiğinde tanımlama tekniklerinin kullanılması daha önemlidir [13]. Farklı balık türlerini tanımlamak için elektroforetik analiz, yüksek performanslı sıvı kromatografisi ve enzime bağlı immünolojik tahlil gibi çeşitli protein bazlı teknikler kullanılmıştır. Pişirme işlemleri çoğunlukla proteinin denatürasyonuna yol açtığından, protein bazlı yöntemler normalde yalnızca ham ürünler için kullanılabilir [20].

Protein, havyar ve balık yumurtasının bir diğer ana bileşenidir. Genel olarak balık yumurtasında ortalama %75 ovoglobulin, %13 kollajen ve %11 albümin bulunur. Balık yumurtası ayrıca güçlü bir antibakteriyel madde olan lizozim içerir [15].

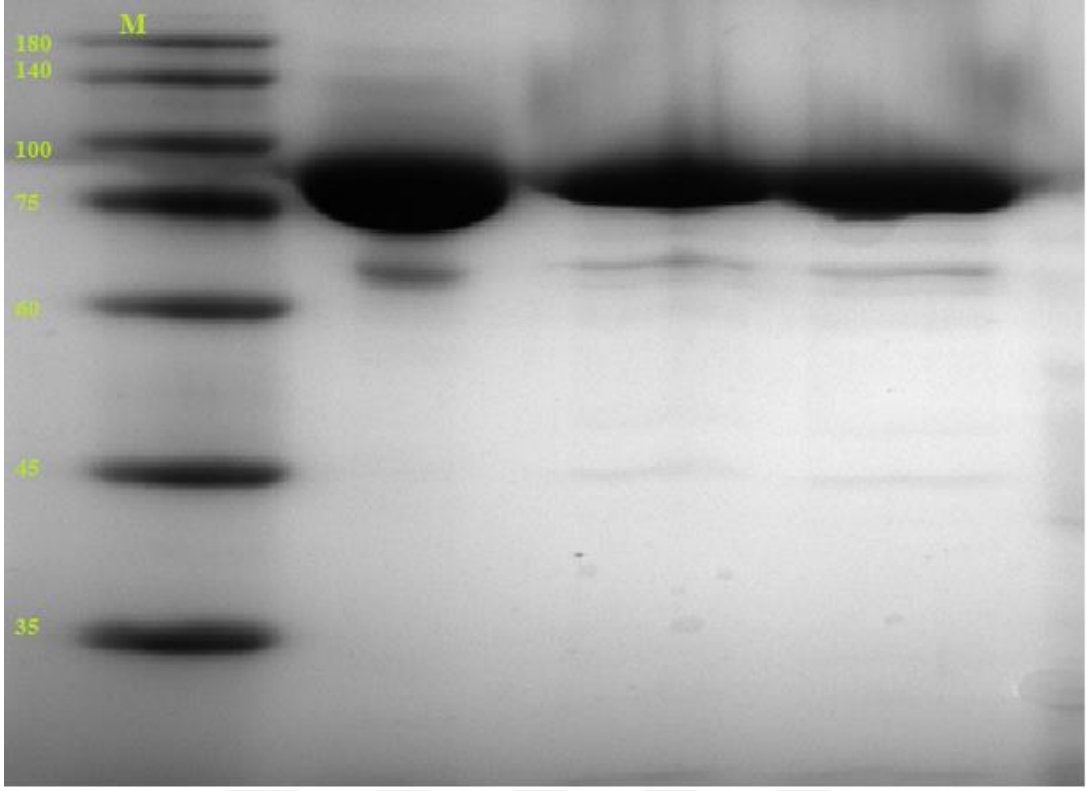
Proteinlerin moleküler ağırlıklarını belirlemek için en yaygın kullanılan yöntemlerden biri, sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezidir (SDS-PAGE). SDS-PAGE, proteinlerin kütleğe göre ayrılmasını sağlayan bir elektroforez yöntemidir. Ortam ("matris" olarak da adlandırılır), poliakrilamid bazlı süreksiz bir jel içinde SDS (sodyum dodesil sülfat) olarak kullanılır. Yaklaşık 1,4 g SDS, 1 g proteine bağlanır; bu, iki amino asit başına bir SDS molekülüne karşılık gelir [3,21]. Sabit bir elektrik alanının uygulanması üzerine protein, kütleğine bağlı olarak her biri farklı bir hızda anoda göç eder. Laemmli [22] tarafından geliştirilen SDS-PAGE, moleküler kütleleri 5 ile 250 KDa arasında olan proteinleri ayırmak için yaygın olarak tercih edilmektedir. Bu basit prosedür, proteinin kütleğe göre hassas bir şekilde ayrılmasını sağlar. Ayrıca SDS-PAGE yöntemi yüksek miktarda çözünmesi, rahat tekrarlanabilirliği ve molekül ağırlığına etki eden proteinlerden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır [3]. Proteinlerin reaktif oksijen türevleriyle kovalent modifikasyonu, protein oksidasyonunu sağlar [23]. Proteinin primer, sekonder ve tersiyer yapısında reaktif oksijenin etkisiyle bazı değişiklikler meydana gelebileceği bilinmektedir. Bu, ürünün protein çözünürlüğü ve rehidrasyon gibi fiziksel özelliklerini içerebilir [3].

Balık havyarının kimyasal bileşimi balık türleri arasında ve ayrıca gonadal olgunlaşma döngüsü sırasında farklılık gösterir [19]. Havyar protein açısından oldukça zengindir. Bu proteinler globulin, albümin, glikoprotein ve fosfoproteindir [5].

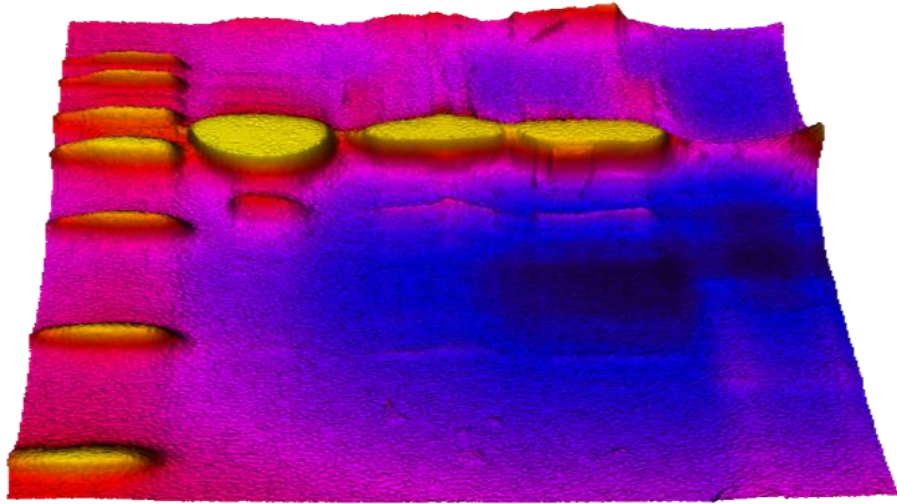
Çalışmamızda düşük molekül ağırlıklı bantlara (10-180 kDa) sahip protein belirtecine göre belirlenen gökkuşığı alabalığı havyarı ekstraktlarının elektroforetik görüntüsü Şekil 4.1'de görülmektedir. Aynı zamanda, Gökkuşığı alabalık havyar protein profillerinin SynGene® Görüntüleme sisteminde alınan farklı filtrelerdeki ve 3D görüntüleri de Şekil 4.2'de sunulmuştur.

Gökkuşığı alabalığı havyarı elektroforetik profilinde (10-180 kDa) oluşan 100-60 kDa arasında belirgin protein bantları ve 180-100 kDa ve 60-45 kDa arasında orta belirgin bantlar belirlendi. Bu görüntülerde beliren yaklaşık 96 kDa'daki protein, tavuk yumurtası sarısındakine benzer vitellin benzeri bir protein olabilir. Vitellin, tahmini molekül ağırlığı (MW) 83.1 ila 95.9 kDa arasında olan iki ana polipeptit bileşeninden oluşur [31], [32]. Gökkuşığı alabalığı havyarında belirlenen 85-75 kDa arasındaki bantlar ovatransferrin [27], [33] benzeri proteinler, yaklaşık 68 kDa ağırlığında görülen bant ise avidin proteini olabilir [34]. Çalışmamızda elde edilen elektroforetik görüntüde 49 kDa molekül ağırlığında belirgin olmayan bantı ovoinhibitör proteini olarak yorumlayabiliriz [30]. Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de sunulan elektroforetik görüntülerde 30-45 kDa arasında oluşan bantlar globülin benzeri proteinleri, 45 kDa molekül ağırlığında oluşan protein bantının ise ovalbumin benzeri bir proteini gösterdiğini ifade edebiliriz [34]. Bu çalışmada Gökkuşığı alabalığına ait elektroforetik görüntülerde kolajen (360 kDa) ve ovomusin (7600 kDa) protein bantları oluşturulamamıştır.

Alak vd. [3]'nin Gökkuşığı Alabalığı'ndan (*Oncorhynchus mykiss*) elde edilen havyarları farklı tuz konsantrasyonlarında (%2, %4 ve %8) işlemiş ve 21 günlük muhafaza süresince SDS-PAGE ile protein profillerini belirlemişlerdir. Çalışmamızda Gökkuşığı Alabalığı havyarların elektroforetik olarak belirlediğimiz protein bantları bu çalışmada da belirlenmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada [26] alabalık (*Oncorhynchus keta*)'tan elde edilen havyarında inceledikleri protein profilindeki bantlar bizim çalışmamızda da oluşmuştur.



Şekil 4.1. Gökkuşağı alabalık havyar protein profillerinin SDS-PAGE analiz görüntüsü M: Protein ağırlık belirteci (Marker)



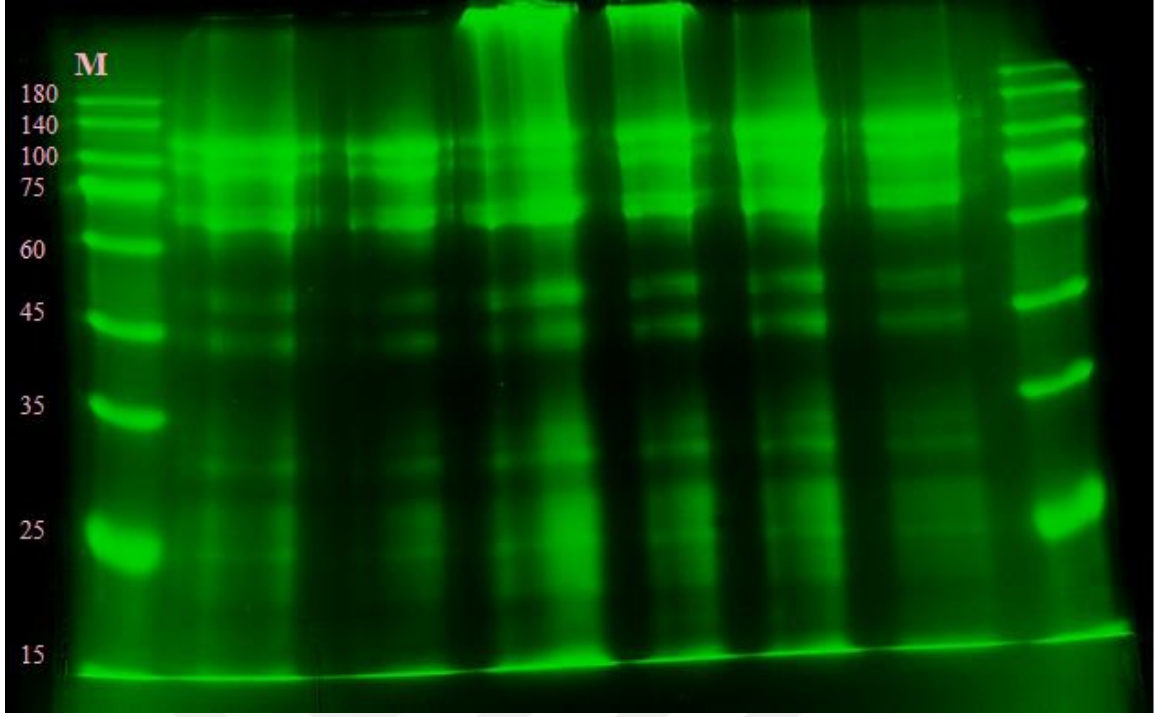
Şekil 4.2. Gökkuşağı alabalık havyar protein profillerinin SynGene® Görüntüleme sisteminde alınan farklı filtrelerdeki ve 3D görüntüleri

Yapılan tez çalışmasında düşük molekül ağırlıklı bantlara (10-180 kDa) sahip protein belirtecine göre belirlenen Beluga havyarı ekstraktlarının elektroforetik görüntüsü Şekil 4.3'de görülmektedir. Şekil 4.4'teki SynGene® Görüntüleme sisteminde alınan farklı filtrelerdeki ve 3D görüntüleri de Beluga havyar protein profilleridir.

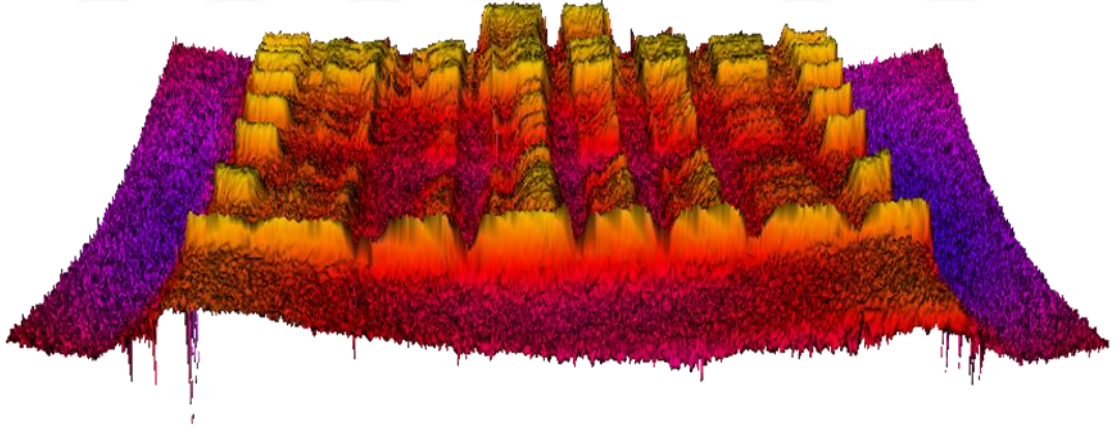
Beluga havyarı elektroforetik profilinde (10-180 kDa) oluşan 180-15 kDa arasında belirgin 16 adet protein fraksiyonları belirlendi. Bu çeşitlilik, çalışmamızda incelenen Beluga havyarının protein çeşitliliği bakımından kalitesini ortaya koymaktadır. Görüntülerde 116 kDa molekül ağırlığında belirgin protein bandı mevcuttur. *Huso huso* balığı kaynaklı Beluga havyarı için diğer belirgin iki protein fraksiyonu (sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi) büyük olasılıkla vitellin (96 kDa) ve ovomukoid veya fosvitindir (28 kDa). Gökkuşuğu alabalığı havyarında belirlenen 75-60 kDa arasındaki bantlar ovatransferrin [27], [33] ve avidin proteini olabilir [34] benzeri proteinler olabilir. Çalışmamızda SDS-PAGE jel elektroforez yöntemi ile elde edilen elektroforetik görüntüde 49 kDa molekül ağırlığında belirgin bandı ovoinhibitör proteini olarak yorumlayabiliriz [30]. Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de sunulan elektroforetik görüntülerde 45 kDa molekül ağırlığında belirgin protein fraksiyonu görülmektedir. Bu bant muhtemelen ovalbumin benzeri bir proteinleri temsil etmektedir [34]. Son olarak Beluga havyarında belirlenen yaklaşık 14 kDa molekül ağırlığındaki belirgin protein bantları lizozim [33] benzeri bir protein olabilir.

Havyar protein olarak öncelikle tuzda çözünür ve kabuğu oluşturan önemli miktarda çözünmeyen kolajen içerir [26]. Çalışmamızda kolajen (360 kDa) ve ovomusin (7600 kDa) dahil olmak üzere balık yumurtasının diğer olası proteinler Beluga havyarına ait jel görüntülerimizde elde edilememiştir.

Farklı menşei ve farklı Mersin balığı türlerine ait havyar çeşitleri ile ilgili yapılan bir çalışmada [35] 6 havyar tipinin SDS-PAGE ile protein profilleri belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen elektroforetik görüntülerde İran menşei Beluga havyarı için beliren bantlar bizim çalışma ile uyum içerisindedir. Yapılan diğer bir çalışmada [13] piyasadan toplanan farklı Mersin balığı türlerine ait havyarların doğru tanımlanması için çeşitli analitik analizler yapılmıştır. Bu çalışmada Beluga havyarına ait SDS-PAGE jel görüntüsünde belirlenen bantlar çalışmamızla uyum içerisindedir.



Şekil 4.3. Beluga havayar protein profillerinin SDS-PAGE analiz görüntüsü M: Protein ağırlık belirteci (Marker)



Şekil 4.4. Beluga havayar protein profillerinin SynGene® Görüntüleme Sisteminde alınan farklı filtrelerdeki ve 3D görüntüleri

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada Keban Baraj Gölü'nde aktif halde olan bir yetiştiricilik tesisinden temin edilen Gökkuşığı alabalık (*Onchorhynchus mykiss*) ve ticari bir firmadan alınan İran menşeli Mersin balığı (*Huso huso*) havyarlarının protein karakterizasyonu yapılarak SDS-PAGE analizinde majör protein grupları belirlenmiştir. Sonuç olarak Gökkuşığı alabalığından elde edilen havyar örneklerinde elektroforetik görüntülerinde oluşan bantlat değerlendirildiğinde muhtemelen vitellin, ovatransferrin, avidin, ovalbumin, globülin benzeri proteinler olarak yorumlayabiliriz. Çalışmamızda incelenen Beluga havyarı SDS-Page analiz görüntüsü vitellin, ovomukoid, ovalbumin, glikoprotein, fosvitin, lizozim, avidin proteinlerinin varlığını doğrulamaktadır.

Çalışmamızda elde edilen veriler değerlendirildiğinde özellikle Beluga havyarının protein çeşitliliği bakımından oldukça değerli bir besin olduğu kanaatine varılmıştır. Ayrıca Gökkuşığı alabalığı havyarlarına ait SDS-PAGE jel görüntülerine göre değerli bir protein kaynağı olarak ifade edebiliriz. Yapılan bu yüksek lisans tez çalışması havyar ürünlerinin protein bileşiminin daha iyi değerlendirilebilmesi için yapılacak olan çalışmalara ışık tutacak niteliktedir

KAYNAKLAR

- [1] Ahmet Safa Yıldırım, “13.-15. Yüzyıllarda Azak Denizi’nde Balık Ve Havıyar Ticareti,” *Atatürk Üniversitesi Edeb. Fakültesi Derg.*, vol. 67, pp. 442–448, 2021, [Online]. Available: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/2090380>.
- [2] N. Özden, Ö., Varlık, C., Erkan, “Havıyar,” *AYDIN Gastron.*, vol. 2, no. 2, pp. 21–34, 2018.
- [3] G. Alak, Ö. Kaynar, and M. Atamanalp, “The impact of salt concentrations on the physicochemical and microbiological changes of rainbow trout caviar,” *Food Biosci.*, vol. 41, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.fbio.2021.100976.
- [4] G. F. Sengör, A. Cýhaner, N. Erkan, Ö. Özden, C. Varlık, and N. Erkan, “Topan kefali (*Mugil cephalus*, L. 1758) yumurtasından havıyar eldesi, randimani ve kimyasal kompozisyonunun belirlenmesi,” *Turkish J. Vet. Anim. Sci.*, vol. 26, no. 1, pp. 183–187, 2002.
- [5] N. Kaba, B. Çorapcı, K. Eryaşar, and H. N. Karabek, “Sensory , chemical and microbiological characteristics of canned-smoked whiting roe pate,” *GIDA J. food*, vol. 38, no. 5, pp. 259–266, 2013, doi: 10.5505/gida.2013.35229.
- [6] Ü. Hayri, Gülyavuz, Mustafa, *Su Ürünleri İşleme Teknolojisi*. ISPARTA: Şahin Matbaa, 1999.
- [7] P. Bronzi, H. Rosenthal, and J. Gessner, “Global sturgeon aquaculture production: An overview,” *J. Appl. Ichthyol.*, vol. 27, no. 2, pp. 169–175, 2011, doi: 10.1111/j.1439-0426.2011.01757.x.
- [8] B. A. Ollee and Ö. Özden, “The effect of additives on the shelf life of processed trout eggs,” *Aquat. Res.*, vol. 4, no. 4, pp. 331–342, 2021, doi: 10.3153/AR21028.
- [9] G. E. Bledsoe, C. D. Bledsoe, and B. Rasco, “Caviars and Fish Roe Products,” *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 43, no. 3, pp. 317–356, 2003, doi: 10.1080/10408690390826545.
- [10] P. Bronzi, M. Chebanov, J. T. Michaels, Q. Wei, H. Rosenthal, and J. Gessner, “Sturgeon meat and caviar production: Global update 2017,” *J. Appl. Ichthyol.*, vol. 35, no. 1, pp. 257–266, Feb. 2019, doi: 10.1111/jai.13870.
- [11] C. Raymakers, “CITES, the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora: its role in the conservation of Acipenseriformes,” *J. Appl. Ichthyol.*, vol. 22, no. s1, pp. 53–65, Dec. 2006, doi: 10.1111/j.1439-0426.2007.00929.x.
- [12] “CAC, Codex Alimentarius Commission,” *Codex Stan 291-2010. Standard for Sturgeon Caviar.*, 2024. fao.org.
- [13] A. M. Pappalardo, A. Petraccioli, T. Capriglione, and V. Ferrito, “From fish eggs to fish name: Caviar species discrimination by Coibar-RFLP, an efficient molecular approach to detect fraud in the caviar trade,” *Molecules*, vol. 24, no. 13, 2019, doi: 10.3390/MOLECULES24132468.
- [14] A. K. Sagarika Mandal, Saheli Ghosal, Indrajit Karmakar, Krishnendu Biswas, “Caviar The Gold In Yours Poon A review on caviar,” *J. Surv. Fish. Sci.*, vol. 10, no. 1S, pp.

- 6180–6187, 2023, [Online]. Available: <https://sifisherliessciences.com/journal/index.php/journal/article/view/2123/2187>.
- [15] T. A. Vilgis, “The physics of the mouthfeel of caviar and other fish roe,” *Int. J. Gastron. Food Sci.*, vol. 19, p. 100192, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.ijgfs.2019.100192.
- [16] R. Intarasirisawat, S. Benjakul, and W. Visessanguan, “Chemical compositions of the roes from skipjack, tongol and bonito,” *Food Chem.*, vol. 124, no. 4, pp. 1328–1334, 2011, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.076.
- [17] A. Gürel Inanlı, Ö. Emir Çoban, Ö. Yılmaz, E. Özpolat, and N. Karaton Kuzgun, “Determination of Lipid Peroxidation and Fatty Acid Compositions in the Caviars of Rainbow Trout and Carp,” *J. Aquat. Food Prod. Technol.*, vol. 27, no. 7, pp. 803–810, 2018, doi: 10.1080/10498850.2018.1499688.
- [18] A. G. Inanlı, G. Oksuztepe, E. Ozpolat, and O. E. Coban, “Effects of acetic acid and different salt concentrations on the shelf life of caviar from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792),” *J. Anim. Vet. Adv.*, vol. 10, no. 23, 2011, doi: 10.3923/javaa.2011.3172.3178.
- [19] A. Adeli and M. Namdar, “The Iranian Caviar and its Substitutes in the World Market,” *Ecopersia*, vol. 3, no. 1, pp. 933–944, 2015.
- [20] S. Tavakoli *et al.*, “Sturgeon, Caviar, and Caviar Substitutes: From Production, Gastronomy, Nutrition, and Quality Change to Trade and Commercial Mimicry,” *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, vol. 29, no. 4. Taylor and Francis Ltd., pp. 753–768, 2021, doi: 10.1080/23308249.2021.1873244.
- [21] S. Mol and S. Turan, “Comparison of Proximate, Fatty Acid and Amino Acid Compositions of Various Types of Fish Roes,” *Int. J. Food Prop.*, vol. 11, no. 3, pp. 669–677, Jul. 2008, doi: 10.1080/10942910701611170.
- [22] T. M. Machado, Y. A. Tabata, N. S. Takahashi, L. M. Casarini, C. R. P. Neiva, and M. B. Henriques, “Caviar substitute produced from roes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*),” *Acta Sci. Technol.*, vol. 38, no. 2, p. 233, 2016, doi: 10.4025/actascitechnol.v38i2.27944.
- [23] L. G. Yangyang Gong, Yanqing Huang and H. H. ao, Jianxue Lu, Yuan Hu, Lianjun Xia, “No Title,” *J. Food Nutr. Res.*, vol. 1, no. 5, pp. 108–112, 2013, [Online]. Available: <https://pubs.sciepub.com/jfnr/1/5/5/#>.
- [24] Ü. ATEŞ, “Köyceğiz Dalyanı (Muğla)’ndan yakalanan kefal türlerinin ve havyarlarının kimyasal kompozisyon ve kalitesinin belirlenmesi,” Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2018.
- [25] M. Wirth, F. Kirschbaum, J. Gessner, A. Krüger, N. Patriche, and R. Billard, “Chemical and biochemical composition of caviar from different sturgeon species and origins,” *Nahrung - Food*, vol. 44, no. 4, pp. 233–237, 2000, doi: 10.1002/1521-3803(20000701)44:4<233::AID-FOOD233>3.0.CO;2-1.
- [26] M. A. Al-Holy and B. A. Rasco, “Characterization of salmon (*Oncorhynchus keta*) and sturgeon (*Acipenser transmontanus*) caviar proteins,” *J. Food Biochem.*, vol. 30, no. 4, pp. 422–428, 2006, doi: 10.1111/j.1745-4514.2006.00069.x.

- [27] S. Keyvanshokoo and B. Vaziri, "Proteome analysis of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) ova," *Anim. Reprod. Sci.*, vol. 109, no. 1–4, pp. 287–297, Dec. 2008, doi: 10.1016/j.anireprosci.2007.10.008.
- [28] S. C. Taylor and A. Posch, "The Design of a Quantitative Western Blot Experiment," *Biomed Res. Int.*, vol. 2014, pp. 1–8, 2014, doi: 10.1155/2014/361590.
- [29] M. Perez Gordo, S. Sanchez- Garcia, B. Cases, C. Pastor, F. Vivanco, and J. Cuesta-Herranz, "Identification of vitellogenin as an allergen in Beluga caviar allergy," *Allergy*, vol. 63, no. 4, pp. 479–480, Apr. 2008, doi: 10.1111/j.1398-9995.2007.01614.x.
- [30] Y. Zhang, I. Naguro, and A. E. Herr, "In Situ Single- Cell Western Blot on Adherent Cell Culture," *Angew. Chemie Int. Ed.*, vol. 58, no. 39, pp. 13929–13934, Sep. 2019, doi: 10.1002/anie.201906920.
- [31] Y. N. Chen and C. M. Kuo, "Purification and characterization of vitellin from the freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*," *Zool. Stud.*, vol. 37, no. 2, pp. 126–136, 1998.
- [32] "URL-5." <https://food-hacks.wonderhowto.com/how-to/make-easy-imitation-caviar-home-0164801/>.
- [33] E. D. N. S. Abeyrathne, H. Y. Lee, and D. U. Ahn, "Sequential separation of lysozyme, ovomucin, ovotransferrin, and ovalbumin from egg white," *Poult. Sci.*, vol. 93, no. 4, pp. 1001–1009, Apr. 2014, doi: 10.3382/ps.2013-03403.
- [34] Q. Rao, A. Klaassen Kamdar, and T. P. Labuza, "Storage Stability of Food Protein Hydrolysates—A Review," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 56, no. 7, pp. 1169–1192, May 2016, doi: 10.1080/10408398.2012.758085.
- [35] H. Rehbein, J. Molkentin, R. Schubring, D. Lieckfeldt, and A. Ludwig, "Development of advanced analytical tools to determine the origin of caviar," *J. Appl. Ichthyol.*, vol. 24, no. s1, pp. 65–70, Jun. 2008, doi: 10.1111/j.1439-0426.2008.01091.x.

