



**ALABALIK İŞLEME ATIKLARINDAN ELDE
EDİLEN HİDROLİZATLARIN PROTEİN-LİPİT
PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ**

Doğukan ÖLMEZ

Yüksek Lisans Tezi

Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Doç. Dr. Gonca ALAK

2017

Her hakkı saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ALABALIK İŞLEME ATIKLARINDAN ELDE
EDİLEN HİDROLİZATLARIN PROTEİN-LİPİT
PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ**

Doğukan ÖLMEZ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ERZURUM
2017**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

ALABALIK İŞLEME ATIKLARINDAN ELDE EDİLEN HİDROLİZATLARIN
PROTEİN-LİPİT PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Doç. Dr. Gonca ALAK danışmanlığında, Doğukan ÖLMEZ tarafından hazırlanan bu çalışma 21/09/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak **oybirliği** le kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr.Gonca ALAK

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Arzu UÇAR

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Şükrü ÖNALAN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun 05.10.2017 tarih ve 39/31 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir (BAP 2016/187)

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ALABALIK İŞLEME ATIKLARINDAN ELDE EDİLEN HİDROLİZATLARIN PROTEİN-LİPİT PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Doğukan ÖLMEZ

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Gonca ALAK

Su ürünleri işleme sektörü protein açısından oldukça zengin olan atıkları içermektedir. Kontrollü şartlar altında bu atıklar ekonomik değeri olan farklı ürünlere dönüştürülebilmektedir.

Bu amaçla, çalışmamızda alabalık işleme atıkları iki farklı gruba (iç organlar ve kas) ayrılarak belirli zaman dilimleri (0, 30, 60, 90, 120 ve 180 dakika) esas alınarak enzimatik yöntemle hidrolizasyon yapıldı. Elde edilen hidrolizatların protein profilleri, molekül büyüklük ve dağılım değişimleri SDS-PAGE, lipit profilleri ise yüksek performanslı ince tabaka kromatografi (YPİTK) yöntemi kullanılarak hesaplandı.

Analiz sonucunda kas dokusunda 9, iç organlarda ise 7 adet protein bandı tespit edildi. Zamana bağlı olarak hidrolizatlarda protein miktarlarında hacimsel olarak artış olduğu belirlendi. Lipit profili olarak 7 sınıf lipit, kolesterol esteri (KE), triaçilgliserol (TAG), serbest yağ asitleri (SYA), kolesterol (KOL), monoaçilgliserol (MAG), diaçilgliserol (DAG) ile fosfolipidler (FL) kas ve iç organlarda tespit edildi. Kas dokusunda hidrolizat süresinin 90. dakikasından sonra hem FFA hem de MAG-DAG yıkılmaya başlamış, toplam yağ içeriğindeki TAG oranı relatif olarak yükselmiştir.

2017, 60 sayfa

Anahtar Kelimeler: Gökkuşuğu alabalığı, İşleme atıkları, Hidrolizat, SDS-PAGE, Protein profil, Lipit profil

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF PROTEIN-LIPID PROFILES OF HYDROLYSATES FROM TROUT BYPRODUCT

Doğukan ÖLMEZ

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Aquaculture

Supervisor: Assoc. Prof. Gonca ALAK

The seafood processing sector contains too rich wastes in terms of protein. These wastes can be converted into different economic value products under controlled conditions.

In this study, two different groups (viscera and muscles) of trout processing wastes were hydrolyzed by enzymatic method based on specific time periods (0, 30, 60, 90, 120 and 180 minutes) for this purpose. Protein profiles, molecular size and distribution alterations of the obtained hydrolysates were determined using SDS-PAGE and lipid profiles via high performance thin layer chromatography (HPTLC) method.

As a result of the analysis, 9 protein bands were detected in muscle and 7 protein bands in viscera. It has been determined temporally that the volume of protein increases in hydrolysates. The lipid profile was determined in muscles and viscera as 7 lipid classes, cholesterol ester (CE), triacylglycerol (TAG), free fatty acids (FFA), cholesterol (COL), monoacylglycerol (MAG), diacylglycerol (DAG) and phospholipids (PL). After 90 minutes of hydrolysis in muscle, both FFA and MAG-DAG started to collapse, the TAG ratio in total fat content increased relatively.

2017, 60 pages

Keywords: Rainbow trout, Byproduct, Hydrolysate, SDS-PAGE, Protein profile, Lipid profile

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın araştırma konusunun belirlenmesi, planlanıp yürütülmesi ve tez haline getirilmesinde bana yol gösteren danışmanım, Sayın Doç. Dr. Gonca ALAK'a,

Çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Özgür KAYNAR'a,

Yüksek Lisans hayatım boyunca maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen ankaya Üniversitesi Mütevelli Heyeti Başkanı Sayın Sıtkı ALP'e

Üniversitemiz Su Ürünleri Fakültesi İç Su Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi alışanlarına,

Ayrıca maddi manevi destek ve teşviklerinden dolayı aileme ve hayatımın her döneminde yanımda olan yardımlarını ve desteklerini her zaman hissettiren dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Doğukan ÖLMEZ

Eylül, 2017

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----------|
| ÖZET..... | i |
| ABSTRACT..... | ii |
| TEŞEKKÜR..... | iii |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ..... | v |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | vi |
| ÇİZELGELER DİZİNİ..... | vii |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ..... | 23 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM..... | 31 |
| 3.1. Materyal..... | 31 |
| 3.1.1. Araştırma yeri..... | 31 |
| 3.1.2. İşleme atıkları..... | 31 |
| 3.1.3. Enzim materyali..... | 31 |
| 3.1.4. Balık materyali..... | 31 |
| 3.2. Metot..... | 33 |
| 3.2.1. Su ürünleri atıklarından protein hidrolizi..... | 33 |
| 3.2.2. Protein miktarı ölçüm yöntemi..... | 34 |
| 3.2.3. Protein profilinin belirlenmesi..... | 35 |
| 3.2.3.a. SDS-PAGE Analizi..... | 36 |
| 3.2.3.b. Protein standartı..... | 38 |
| 3.2.3.c. Proteinlerin molekül ağırlıklarının hesaplanması..... | 38 |
| 3.2.4. Lipit profilinin belirlenmesi..... | 38 |
| 3.2.4.a. Yüksek performanslı ince tabaka kromatografi..... | 38 |
| 3.2.5. İstatistikî analizler..... | 39 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI..... | 40 |
| 4.1. SDS-PAGE Analizleri..... | 40 |
| 4.2. Lipit Profili..... | 47 |
| 5. TARTIŞMA ve SONUÇ..... | 49 |
| KAYNAKLAR..... | 54 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 61 |

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|----------|---|
| μ | Mikro |
| μl | Mikrolitre |
| °C | Santigrat derece |
| ABTS | 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) |
| cm | Santimetre |
| Dk | Dakika |
| DPPH | 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl |
| FAO | Food and Agriculture Organization |
| GTHB | Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı |
| kg | Kilogram |
| g | Gram |
| mA | Mili amper |
| N | Normal |
| nm | Nanometre |
| NaCl | Sodyum klorür |
| NaOH | Sodyum hidroksil |
| SDS-PAGE | Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide jel elektroforez |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 1.1. Deniz ürünleri yan ürünlerinin kaynakları ve kullanımına genel bakış..... | 3 |
| Şekil 1.2. Balık yan ürünlerinin ortalama oranı | 4 |
| Şekil 1.3. Balık derisinden elde edilen çeşitli ürünler | 6 |
| Şekil 1.4. Balık protein hidrolizatının üretim işlemi | 16 |
| Şekil 3.1. Kas ve iç organlardan oluşan işleme atıkları | 32 |
| Şekil 3.2. İç organlar ve kas dokuya ait hidrolizatlar | 34 |
| Şekil 3.3. İç organlar ve kas dokuya ait hidrolizatlardan protein tayini | 35 |
| Şekil 3.4. Protein analizlerine ait SDS-PAGE görüntüsü..... | 37 |
| Şekil 4.1. Balık kas hidrolizat dansitogramları ve elektroforetogram | 41 |
| Şekil 4.2. Balık iç organların hidrolizat dansitogramları ve elektroforetogram | 43 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Çizelge 1.1. Su ürünleri üretimi, ihracatı, ithalatı ve tüketimi..... | 2 |
| Çizelge 1.2. Balık protein hidrolizatını üretmek için kullanılan enzimler..... | 15 |
| Çizelge 4.1. Kas hidrolizat proteinlerine ait volum ve % değerleri | 45 |
| Çizelge 4.2. İç organ hidrolizat proteinlerine ait volum ve % değerleri..... | 46 |
| Çizelge 4.3. Kas ve iç organ hidrolizatlarının zamansal olarak protein değişim oranı .. | 47 |
| Çizelge 4.4. Kas hidrolizat lipidlerine ait % değerleri..... | 47 |
| Çizelge 4.5. İç organ hidrolizat lipidlerine ait % değerleri..... | 48 |

1. GİRİŞ

Nüfus artışı, kentleşme, gelişmiş ülkelerdeki sağlıklı beslenme alışkanlıkları gibi nedenlerden dolayı dünya çapındaki su ürünleri talebinde bir artışa neden olmuştur (Palmeira *et al.* 2014). Bu durum su ürünleri üretiminin yapıldığı çevrelerde ise yüz milyonlarca insan için gıda temini ve gelir kaynağı halini almıştır. 2014'te küresel nüfus bazında balıkçılıkla uğraşanların %84'ü Asya, %10'u Afrika ve Latin Amerika gibi bölgelerde bulunurken dünyada balık yetiştiriciliği yapanların %94'ünün Asya'da yaşadığı bilinmektedir (yaklaşık 18 milyon kişi) (FAO 2016). Artan dünya nüfusuna ve talebe paralel olarak kişi başı su ürünleri tüketimi de artış eğilimi göstermiştir (FAO 2016).

Yine Gıda ve Tarım Organizasyonuna göre dünyada balık tüketiminin 2025 yılında 178 milyon tona ulaşacağı ve kişi başı balık tüketiminin, 2025 yılında önceki yıllara göre %8 artışla 21,8 kg seviyesine ulaşacağı öngörülmektedir. Bu artışların arkasındaki sebep, balık üretimindeki gelişmeler ve modern dağıtım kanalları sayesinde yükselen gelirler ve kentleşme olarak düşünülmektedir (FAO 2016).

Ülkemizde ise 2015 yılında su ürünleri üretimi, 431.907 ton avcılık (deniz ve iç su toplamı) ve 240.334 ton yetiştiricilik (deniz ve iç su toplamı) olmak üzere toplam 672.241 ton/yıl olarak belirlenmiştir. Bu toplam üretim içerisinde değerlendirilemeyen su ürünleri miktarı ise 6.070 (ton/yıl) olarak açıklanmıştır (GTHB 2017).

Çizelge 1.1. Su ürünleri üretimi, ihracatı, ithalatı ve tüketimi (GTHB 2017)

| Yıllar | Üretim (ton) | İhracat (ton) | İthalat (ton) | Tüketim (ton) | | Değerlendirile -meyen (ton) | Kişi Başına Tüketim (kg) |
|--------|--------------|---------------|---------------|---------------|------------|-----------------------------|--------------------------|
| | | | | İç tüketim | B. un/yağ* | | |
| 2000 | 582.376 | 14.533 | 44.230 | 538.764 | 71.000 | 2.309 | 8,0 |
| 2001 | 594.977 | 18.978 | 12.971 | 517.832 | 62.755 | 8.383 | 7,5 |
| 2002 | 627.847 | 26.860 | 22.532 | 466.289 | 156.000 | 1.230 | 6,7 |
| 2003 | 587.715 | 29.937 | 45.606 | 470.131 | 120.000 | 13.253 | 6,7 |
| 2004 | 644.492 | 32.804 | 57.694 | 555.859 | 105.000 | 8.523 | 7,8 |
| 2005 | 544.773 | 37.655 | 47.676 | 520.985 | 30.000 | 3.809 | 7,2 |
| 2006 | 661.991 | 41.973 | 53.563 | 597.738 | 60.000 | 15.843 | 8,1 |
| 2007 | 772.323 | 47.214 | 58.022 | 604.695 | 170.000 | 8.436 | 8,6 |
| 2008 | 646.310 | 54.526 | 63.222 | 555.275 | 95.742 | 3.989 | 7,8 |
| 2009 | 622.962 | 54.354 | 72.686 | 545.368 | 90.211 | 5.715 | 7,6 |
| 2010 | 653.080 | 55.109 | 80.726 | 505.059 | 168.073 | 5.565 | 6,9 |
| 2011 | 703.545 | 66.738 | 65.698 | 468.040 | 228.709 | 5.756 | 6,3 |
| 2012 | 644.852 | 74.007 | 65.384 | 532.347 | 94.201 | 9.682 | 7,1 |
| 2013 | 607.515 | 101.063 | 67.530 | 479.708 | 87.896 | 6.378 | 6,3 |
| 2014 | 537.345 | 115.682 | 77.545 | 420.361 | 73.667 | 5.180 | 5,5 |
| 2015 | 672.241 | 121.053 | 110.761 | 485.811 | 176.138 | 6.070 | 6,2 |

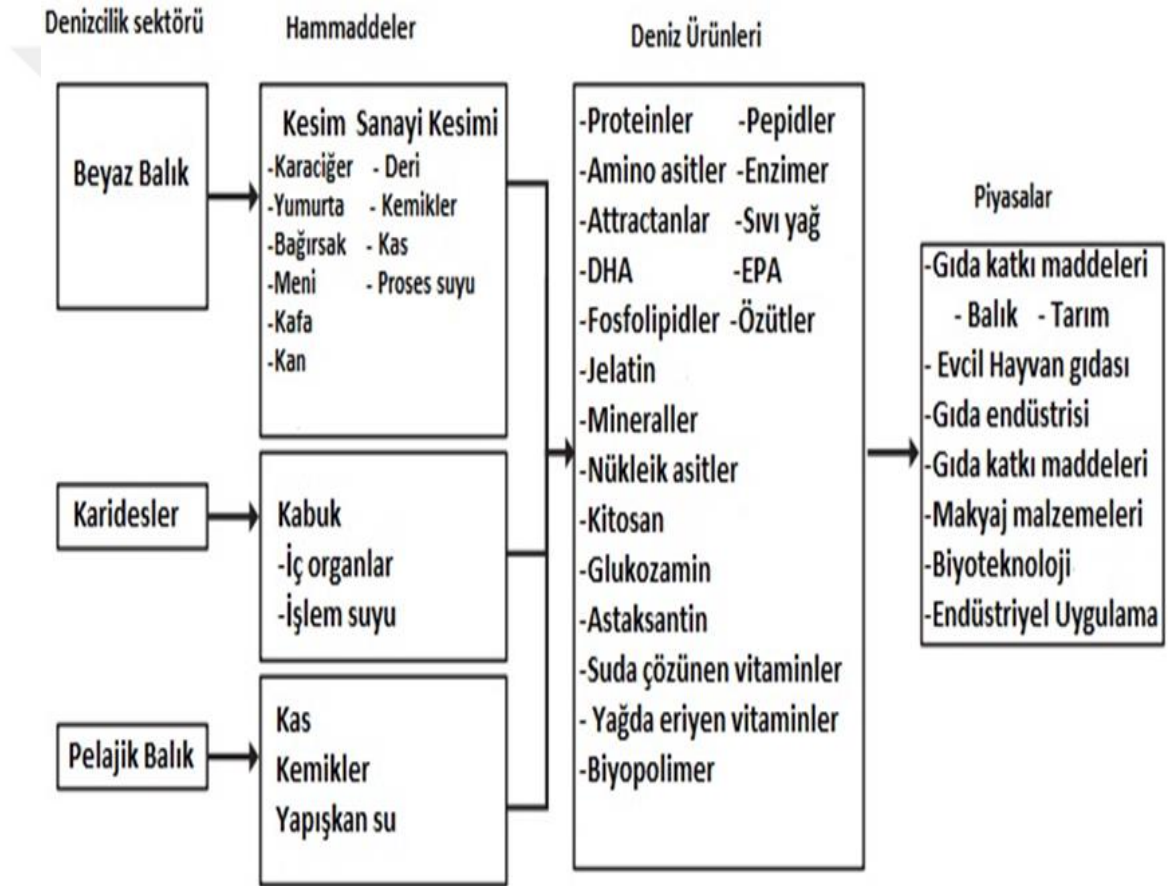
* Balık unu ve yağı fabrikalarında işlenen miktar

Dünyada su ürünlerinin gıda dışı kullanım miktarı, 2014 yılında 20,9 milyon ton (toplam av miktarının %22,4'ü) olarak belirlenmiş ve bu değer %76'sı balık unu ve balık yağı olmak üzere su ürünleri yetiştiriciliğinde doğrudan hammadde ve besin temini gibi çeşitli amaçlarla kullanılmıştır (FAO 2016).

Balık Yan Ürünlerinin Avantajları

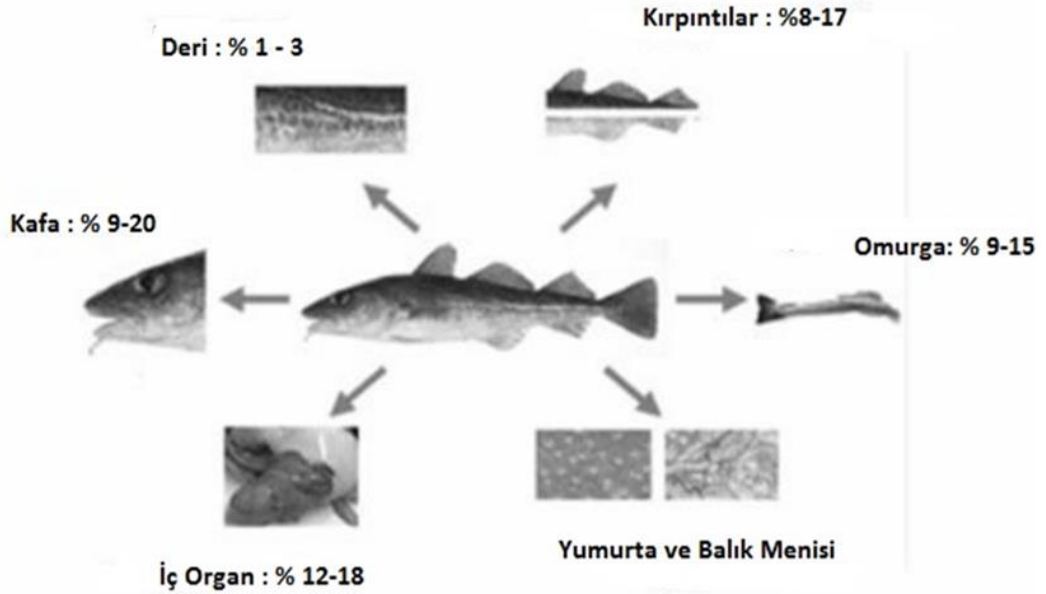
1. Daha küçük ve daha sabit miktarlarda yan ürünler daha uzun süreler boyunca kullanılabilir.
2. İşleme için daha küçük ölçekli ekipman gereklidir.
3. İnsan tüketimi için işlenmiş yüksek kalitede balıklardan türetilmiştir.
4. Deri, karkas, kafa ve benzeri yüksek kaliteli iç organları direkt olarak işleme hattından temin edilebilir.
5. Yüksek kaliteli balık proteinleri ve yağlar elde edilir (Anonim 2017a).

Dünyada ve ülkemizde göz ardı edilemeyecek kadar büyük hacimde olan bu ıskarta ürünler ve işleme atıklarının değişik prosesler uygulanarak geri kazanımı ve ülke ekonomisine entegrasyonuna yönelik yan ürün çalışmaları gün geçtikçe önem kazanmıştır. Asıl ürünün hazırlanması süresince çıkarılan, tüm ham materyale (kemik, kabuk, deri, sakatat benzeri katı atıklar ve emülsiyon, süspansiyon şeklinde sıvı atıklar vs) yan ürün denilmekte ve çeşitli kullanım alanlarına göre gruplandırılmaktadır (Çağlak 2009).



Şekil 1.1. Deniz ürünleri yan ürünlerinin kaynakları ve kullanımına genel bakış (Kim *et al.* 2014)

Balıklardan çıkan yan ürünler; iç organlar, ürünlerin işlenmesi sonucunda kalan kısımlar ve baş olmak üzere 3 kısımda incelenir.



Şekil 1.2. Balık yan ürünlerinin ortalama oranı (Penven *et al.* 2013)

İç Organlar: Balık iç organları, balıkların net ağırlıklarının %10-25'ini oluşturur ve omega 3 yağ asitleri, eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) açısından oldukça zengindir. Bunların yanı sıra tripsin, pepsin, kollajenaz ve elastaz gibi aspartik ve serin proteazlardan farklı enzimlerce zengindir. Hidrolitik enzimlerin, özellikle proteinazların, sanayi, tıp ve araştırma alanlarında birçok kullanımı ve potansiyel uygulamaları bulunmaktadır. Bu uygulamalar arasında deterjan üretimi, deri işleme, kimyasal modifikasyonlar ve gıda işleme (bisküvi üretimi, etin hassaslaştırılması, meyve ve sebze içeceklerinin hazırlanması, jelatin) yer almaktadır (Yağcı vd. 2006; Jónsson and Viðarsson 2016).

Özellikle balıkçı teknelerinde balıkların temizlenmesi aşamasında çıkarılan balık yumurtası, dalak, ciğer, mide ve bağırsakların kalitelerinin karada çıkartılanlardan daha iyi olduğu görülmüştür. Bu yan ürünlerin yüksek kalitede olması kullanım amacı açısından önemli olup özellikle balık silajında ve evcil hayvanların beslenmelerinde tercih edilirler (Çağlak 2009; Çağlak ve Çağlak 2011).

Yine balık karaciğerinden yağ ve konserve elde edilirken gonadlardan ise meze veya yiyecekler yapılmaktadır. Özellikle konserve gonad, İngiltere, Romanya ve Rusya'da popüler gıdalar arasındadır (Çaklı 2008; Jónsson and Viðarsson 2016).

Baş: Balık kafaları, taze dondurulmuş veya tuzlanmış ürünler olarak işlenmiş olan balık yüzleri, dilleri ve yanaklarıyla birlikte İzlanda'da yıllarca kurutulmuştur. İzlanda'da kurutulmuş balık kafası üzerine çalışan 13 firma bulunmaktadır ve bu firmalar için 2015'e kadar Nijerya kurutulmuş kafaların ihracında önemli bir yeri. 80'li yılların başında kurutulmuş balık kafalarının yıllık üretimi 1.000 ton civarındayken 2015 yılında bu rakam 15.000 ton olarak belirtilmiş ve yaklaşık 75.000 tonun üzerinde ıslak hammaddenin bulunduğu rapor edilmiştir (Archer *et al.* 2001; Jónsson and Viðarsson 2016).

Uygulanan İşleme Teknolojileri Sonucunda Kalan Kısımlar: Farklı işleme tekniklerine maruz kalmış balıklardan elde edilen yan ürünlerin kaliteleri ve potansiyelleri farklıdır. Kalite içeriği önemli olan bu ürünlerin yeni işleme teknolojilerinin geliştirilmesi ile eczacılıkta, kozmetikte ve besin endüstrisinde kullanılan yan ürünlere alternatif yeni ürünler olarak kazandırılması sağlanmış olacaktır (Çağlak 2009; Çağlak ve Çağlak 2011).

İşleme teknolojileri sonucunda hammaddeden çıkan kısımlar: İşleme atıkları balık unu ve yağı endüstrisinde yaygın bir şekilde kullanılabildiği gibi balık kafaları, gövdeleri, omurgalar ve kuyrukları da kurutularak çeşitli Afrika ülkelerine ihraç edilmekte ve önemli gelirler elde edilmektedir. Bununla birlikte, balık kafasındaki et, lezzeti ve mükemmel dokusu nedeniyle ilgi gören atıklardandır. Benzer şekilde balık yüzleri, dilleri ve yanakları da tuzlanarak veya dondurularak değerlendirilmektedir (Çaklı 2008; Jónsson and Viðarsson 2016).

Diğer işleme atıkları gibi balık gözleri de özellikle amino asit, doymamış yağ asitleri ve vitamin değerleri nedeniyle dünyanın birçok yerinde önemli besin öğeleri arasında yer almaktadır. Bunlara ek olarak balık gözlerinin ön kısmında bulunan açık koruyucu

tabakalarının korneaya dönüştürülmesine yönelik te çalışmalar bulunmaktadır (Jónsson and Viðarsson 2016).

Balık kesikleri, karın yüzgeçleri ve kıyması; kesme parçaları, fileto ve balığın kesilmesinden sonra kalan hammaddelerdir. Balık eti kıyıldığında, doku, lezzet ve renkte değişimler meydana gelir. Balık kıyması, beslenme ve fonksiyonel ürünler üretmek için fiziksel veya kimyasal değişimlerle doğrudan çeşitli gıda sistemlerinde kullanıldığı bilinmektedir (Çaklı 2008; Jónsson and Viðarsson 2016) .

Balık derisi, tekstil, giysi, ayakkabı, çanta ve diğer moda ürünlerinin üretiminin yanında kolajen ve jelatin üretiminde de kullanılmaktadır (Çaklı 2008; Jónsson and Viðarsson 2016).



Şekil 1.3. Balık derisinden elde edilen çeşitli ürünler (Jónsson and Viðarsson 2016)

En büyük pazarını Güney Avrupa'da bulunduran hava kesesi, tuzlu ve kurutulmuş olarak Çin ve Hong Kong'da popüler bir ürün olup özellikle çorba yapımında veya kızartmalarda kullanılmaktadır (Jónsson and Viðarsson 2016).

Eskiden beri balık yan ürünlerinin düşük kaliteli ve yararsız olduğu düşünülmesine rağmen, bugün çoğu ülkede balık yan ürünlerinin daha fazla yararlı olduğu kabul görmektedir (Çaklı 2008; Çağlak 2009; Çağlak ve Çağlak 2011). Balık atıklarının besin kompozisyonu, balıkların besin bileşimi, balığın türü, cinsiyeti, yaşı, beslenme durumu, üreme zamanı ve sağlığı gibi faktörlerden etkilenir. Balıkların çoğu %15-30 protein, %0-25 yağ ve %50-80 nem içerirken balık atıklarının besin kompozisyonu ise; ham protein %57,92 ± 5,26, yağ (%) 19,10±6,06, ham lif (%) 1,19±1,21, kül (%) 21,79±3,52, kalsiyum (%) 5,80±1,35, fosfor (%) 2,04±0,64, potasyum (%) 0,68±0,11, sodyum (%) 0,61±0,08, magnezyum (%) 0,17±0,04, demir (ppm) 100,00±42,00, çinko (ppm) 62,00±12,00, manganez (ppm) 6,00±7,00 ve bakır (ppm) 1,00±1,00 belirlenmiştir (Ghaly *et al.* 2013).

Balık yan ürünlerinden aşağıda özetlenmeye çalışılan çeşitli ürünler elde edilmektedir.

Balık Silajı:

Hayvan besleme özellikleri bakımından yüksek biyolojik özelliklere sahip değerli bir protein kaynağıdır. Balık silajı sıvı bir üründür ve birçok balıktan elde edilebilir (Ghaly *et al.* 2013). Balık silajı üretiminde, genellikle büyük miktarlarda yakalanan endüstriyel pelajik balıklar (çaça, ringa balığı, gibi) ve balık işleme atıkları hammadde olarak kullanılmaktadır. Üretimi sırasında genellikle formik asit kullanılır (Archer *et al.* 2001).

Özellikle Danimarka ve Norveç gibi İskandinav ülkelerinde balık silajı üretiminin önemli olduğu bilinmektedir. Balık silajı, Norveç'te çoğunlukla kürk hayvanları için bir yem olarak kullanılırken daha sonra bu teknoloji somon yetiştiriciliğinde uygulanmaya başlanmış ve iyi sonuçlar elde edilmiştir (Çaklı 2008; Çolakoğlu ve Künili 2016; Jónsson and Viðarsson 2016).

Balık Unu:

Avcılıkla elde edilen bütün balıklardan, balık atıklarından, balıkçılık yan ürünlerinden ve kabuklu deniz hayvanlarından farklı proseslerin (ısıtma, presleme, ayırma, buharlaştırma, kurutma ve öğütme) uygulanması ile elde edilen balık unu önemli derecede protein kaynağıdır (Ghaly *et al.* 2013; Çolakoğlu ve Künili 2016).

Balık unu, besin bileşimine göre çeşitli katagorilerde üretilir. Yüksek besin değerli balık unu, ziraat ve su ürünleri yetiştiriciliğinde talep görmektedir. Mümkün olan en iyi besin içerikli bir yem yapmak için rasyonun balık yağı ile harmanlanması gerekir. Sindirilebilir protein, gerekli vitaminler ve yağlar, hayvanların hızlı büyümesi için önemlidir (Archer *et al.* 2001).

Balık Yağı:

Balık yağı, balık kasında bulunan vücut yağı ve iç organlardan (genellikle karaciğer) elde edilen karaciğer yağı olmak üzere iki kategoriye ayrılır. Tüm balık veya işleme atıklarından elde edilen yağlar ise bu iki grubun karışımıdır (Sathivel *et al.* 2003; Viana do Nascimento *et al.*, 2015) .

Bazı pelajik balıklar ve köpek balıkları, zengin doymamış yağ asitlerine ve kas yağı kaynağına sahiplerdir. Özellikle morina ve mezigit balıkları ise karaciğerlerinde yüksek miktarda yağ bulundurmaktadır. Karaciğer yağı kalitesinin, balığın beslenme şekline, türüne, mevsime, üreme zamanına ve beslenme alışkanlıklarının yanı sıra balıkların tazeliğine de bağlı olduğu bilinmektedir (Archer *et al.* 2001; Çolakoğlu ve Künili 2016).

Biyodizel Üretimi:

Biyodizel bitkisel veya hayvansal orjinli yenilebilir, yenilemez ve atık balık yağlarının monoalkil esterlerinden oluşur. Bu maddeler, toksik olmayan, biyolojik olarak

parçalanabilen ve yenilenebilir bir enerji kaynağı olup biyodizel üretiminde kimyasal veya enzimatik yollar kullanılmaktadır. Günümüzde, endüstriyel ölçekte biyodizel üretimi, alkali (NaOH) kimyasal katalizör kullanılarak gerçekleştirilse de yüksek tepkime sıcaklığı, sabun oluşumu, atık üretimi ve gliserolün alkali katalizörlerle kontaminasyonu gibi birçok dezavantaj oluşmaktadır.

Biyodizel üretimi çoğunlukla sabun ve atık oluşumunun olmaması, düşük sıcaklık gereksinimi ve yüksek gliserol kalitesinden dolayı enzimatik yöntemlerde tercih edilmektedir. *Canadida Antarctica*, *Carica papaya*, *Rhizopusoryzae*, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas Fluoresces*, *Rhizomucormiehei* ve *Mucormiehei*'den elde edilen lipazlar biyodizel üretiminde kullanılmakta (Ghaly *et al.* 2013) ve elde edilen biyodizel yakıt, petrolden türetilen dizel yakıtın bir katkı maddesi ya da ikamesi olmaya aday görülmektedir.

Biyogaz Üretimi:

Sığır gibi hayvanların yan ürünlerinden biyogaz üretimi hakkında literatürlerde kapsamlı çalışmalar bulunmasına rağmen su ürünleri ve sucul bitki atıklarının kullanılarak biyogaz üretimine yönelik oldukça sınırlı çalışmaya rastlanmıştır. Üretilen biyogazın doğrudan termik enerji üretmek için veya elektriksel-mekanik enerji üretmek üzere bir kojenerasyon tesisinde yakıt olarak kullanılabilceği bildirilmiştir (Lanari and Franci 1998; Arvanitoyannis and Kassaveti 2008).

Kitin ve Kitosan:

Kitin, selülozdan sonra biyokütüde en çok bulunan ikinci polisakkarit olup genellikle kabuklu hayvanlardan, karideslerden ve yengeçlerden izole edilse de en önemli kitin kaynağı kalamardır. Kitin ve kitosan, yıllarca ayırt edici biyolojik ve fizikokimyasal özelliklerinden dolayı yiyecek, ilaç ve sağlık uygulamalarında büyük ilgi görmüş bir deniz polisakkaritidir. Son zamanlarda, bu biyopolimerlerin oldukça geniş bir kullanım potansiyellerinin olduğuna yönelik çalışmalar hızla artmıştır. Özellikle doğal ürünlerin

kullanımına yönelik mevcut eğilimde bu artışı ivmelendirmiş, kitosan üretimini son derece kârlı hale getirmiştir (Çetiner 2008; Yumuk 2014; Çolakoğlu ve Künili 2016).

Kolajen ve Jelatin:

Dünyada yaygın olarak gıda ve ilaç endüstrisinde kolajen ve jelatin kullanılmaktadır. Balık jelatini memeli jelatiniyle benzer özelliklere sahip olup gıda sanayiinde memeli jelatinine alternatif olarak yararlanılmaktadır. Balıkların deri, kemik ve hava keseleri önemli miktarda kolajeni içermekle birlikte antihipertansif, antioksidan, antimikrobiyal, antikoagülan, antidiyabetik, antikanser, immünoestimülatör ve iştah azaltma gibi biyolojik aktivitelere de sahip olduğu bilinmektedir (Ghaly *et al.* 2013; Venkatesan and Kim 2014; Çolakoğlu ve Künili 2016).

Kompost / Gübre:

Gübre eldesinde en çok azotlu balıklar ve atıkları kullanılmaktadır. Bunlar arasında ölü balıklar, balık iç organları, iskeletleri, bütün yağlı balıklar ve kabuklu deniz hayvan atıkları görülmektedir. Bu atıklar genellikle protein bakımından zengin olmakla birlikte çürüme hızları da yüksektir. Balık kullanılarak üretilen kompostlar, topraktaki besin içeriğini iyileştirmede oldukça etkili olmaktadır (Archer *et al.* 2001; Çaklı 2008).

Balık Çorbaları ve Sosları:

Fransa başta olmak üzere bazı Avrupa ülkelerinde, balık ve özellikle kabuklu deniz atıkları, balık çorbaları ve soslarının üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Fermente balık sosları antik zamanlardan beri üretilen ve Antik Romalılar tarafından çok önem verilen bir gıda olup, birçok Asya ülkesinde son derece popülerdir (Archer *et al.* 2001; Çaklı 2008).

Taurin (C₂H₇NO₃S):

Çoğunlukla insan vücudunda serbest biçimde bulunan Taurin, birçok canlı türünün baskın serbest amino asididir. İçerik açısından, insan vücudundaki taurin, glutamik asitten sonra ikinci sırada yer almaktadır. Osmotik regülasyon, hücre zarı stabilizasyonu, vücut detoksifikasyonu, antioksidan koruması, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve hücre içi kalsiyum homeostaz regülasyonu, taurinin biyolojik fonksiyonlarındandır. Merkezi sinir sisteminden, endokrin ve metabolik etkilerine, böbrek faaliyetlerinin düzenlenmesine kadar bir çok fizyolojik rolleri bulunmaktadır (Gaul 1986; O'Flaherty *et al.* 1997; Schaffer *et al.* 2000; Schuller-Levis and Park 2003; Larsen *et al.* 2007; Ferraro *et al.* 2010).

Taurin, ısıya dayanıklı olup glisin'den sonra suda çözünmesi en fazla olan amino asittir. Taurin, yüksek konsantrasyonlarda hayvan kaynaklı gıdalarda bulunmaktadır. Özellikle deniz organizmalarında bu miktar çok daha fazladır. Deniz ürünleri içerisinde, en yüksek taurin seviyesi 655 mg/100 g olarak midyede belirlenirken bunu 240 mg/100 g ile taze istiridyeler ve 151 mg/100 g ile balık eti izlemektedir (Schuller-Levis and Park 2003; Spitze *et al.* 2003; Ferraro *et al.* 2010).

Bunlara ilaveten son zamanlarda özellikle başarılı pazarlama stratejileri nedeniyle, "enerji içecekleri" olarak da taurinlerin kullanımı artmıştır (Larsen *et al.* 2007; Ferraro *et al.* 2010).

Kreatin:

Kreatin, glisin'den sentezlenen bir amino asit olup kas dokularında, özellikle iskelet, kalp ve düz kaslarda, %60-70 oranında fosfokreatin formunda bulunur. Ayrıca karaciğer, böbrek ve testislerde daha küçük miktarlarda bulunur. Özellikle, yoğun kas egzersizi sırasında enerji sağlayarak taurin'de olduğu gibi önemli biyolojik ve fizyolojik fonksiyonlara sahiptir. Kreatinin ana deniz kaynağı, 6,5 g / kg ile ringa balığı olup bunu somon ve morina izler. Yağlı balıklardaki kreatin miktarı sığır (5,5 g / kg) ve domuz

etinden (5 g / kg) çok daha düşüktür (Bemben and Lamont 2005; Larsen *et al.* 2007; Ferraro *et al.* 2010).

Hidroksiapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$:

Doğal olarak bulunan hidroksiapatit, kararlılık ve biyouyumluluk açısından son derece arzu edilen fiziko-kimyasal özelliklere sahip bir biyoseramik formudur. Bu mineral, insan; balık ve daha yüksek hayvanlardaki kemiklerin, dişlerin ve kireç haline getirilmiş kıkırdak dokularının birincil bileşendir. İnsan kemiğinin %43'ü, hayvan kemiğinin %65-70'i ve balık kemiğinin %60-70'i hidroksiapatit içermektedir (Ferraro *et al.* 2010; Ingole *et al.* 2017; Pereira *et al.* 2017).

Günümüzde, hidroksiapatit içeren polimerik kompozitler, özellikle kolaylıkla uyarlanabilen imalatlarından ötürü talep edilmektedir. Ortopedik kusur onarımı, diş tedavileri ve bazı kemiklere uygulanan kaplamalar, hidroksiapatitin en yaygın uygulamaları arasındadır (Ferraro *et al.* 2010; Ingole *et al.* 2017).

Astaksantin ($\text{C}_{40}\text{H}_{52}\text{O}_4$):

Astaksantin, yüksek biyolojik rolleri oynayan ve gıda uygulamaları için arzu edilen birkaç özelliklere sahip β -karotenden oksitlenmiştir. Astaksantin, kanser, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve morötesi radyasyondan kaynaklanan hasarların önlenmesinde kullanılmaktadır. Bu karotenoidin başlıca kaynağı, alg hücreleri ve kabuklular gibi çeşitli sucul organizmalardır. Kabuklu kabukları, yüksek karotenoid içerikleri nedeniyle, sadece kitinin kazanımında değil aynı zamanda karotenoidlerin geri kazanımı için de kullanılmaktadır (Ferraro *et al.* 2010; Tropea *et al.* 2013).

Karotenoid Pigmentler:

Karotenoid pigmentler, balık ve kabuklu deniz hayvanlarına kırmızı ve pembe renklerini veren bir pigment grubudur. Bu pigmentler balık ve kabuklu deniz hayvanları tarafından sentez edilemediğinden diyet içinde alınmalıdır. Hayvanların gelişim ve yaşam döngüsünde önemli bir rol oynarlar ve bu da onları su ürünleri yetiştiriciliğinin önemli ve değerli bir bileşeni haline getirir. Karotenoid pigmentler, kitin ve kitosan üretimi sırasında kabuklu deniz ürünü atığından ticari olarak çıkarılır. Karotenoid pigmentler yengeç ve karides işleme atığından ekstrakte edilir. Pigmentler, hayvanın kabuğunda çok küçük miktarlarda (120-150 µg/g) bulunurlar. Kabuklar, enzimatik ve mikrobiyolojik bozulmayı önlemek için yakalandıktan kısa süre sonra işlenmelidir (Archer *et al.* 2001; Yılmaz 2010).

Pigmentlerin temel kullanım amacı balık ve kabuklu deniz ürünlerinin ticari olarak istenilen renk ve mükemmelliğe ulaşmasını sağlamaktır. Özellikle su ürünleri yetiştiricileri için ciddi besin maddeleri olan pigmentler bazı balık türlerinde, üreme ve yumurta açılım oranında oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (Archer *et al.* 2001; Çoban ve Keleştemur 2010).

Balık Tutkalı:

Balık derisinden veya balık gövdelerinden elde edilse de balık derileri, en popüler hammaddelerdir. Çiğ olarak seçilen malzeme, son tutkal ürününün özelliklerini belirler. Tutkal yapımında ilk aşama, derilerin bir alkaliyle muamele edilmeden önce su içinde yıkamasıdır. Bunu nötralizasyon ve başka bir yıkama aşaması izlemektedir. Ardından işlemde geçirilmiş deriler tutkal çıkarmak için sekiz saat boyunca buharda pişirilir. Balık tutkalı, bazı geleneksel dolap yapımcıları tarafından hala kullanılmakla birlikte sağladığı bazı avantajlardan dolayı sıvı modern yapışkanlarla da rekabet halindedir (Archer *et al.* 2001; Çaklı 2008).

İnci Özü:

İnci özü, guanin adı verilen bir kimyasal olup pelajik balıkların pulları, potansiyel zengin birer guanin kaynağıdır. Guanin, cila ve plastiklerle karıştırılarak mücevheratta, süs eşyalarında ve tırnak cilalarında inci efekti vermek amacı ile kullanılmaktadır (Archer *et al.* 2001).

1. Balık Protein Hidrolizati:

Balık protein hidrolizati, toz formunda bir üründür ve genel olarak krema rengindedir. Balık proteinlerini amino asitler haline dönüştürmek için enzimlerin kullanılmasıyla üretilir (proteoliz). Teknolojik ve genel olarak pelajik balıklar kullanılabilir olsa da, tüm demersal balık veya balık atıkları, balık protein hidrolizati üretimi için tercih edilen hammaddelerdir. Bu maddeler çok bekletilmeden balık yakalandıktan sonra mümkün olan en kısa sürede işlenmelidir (Çaklı 2008).

Hidrolize balık ürünleri, evcil hayvanlara gıda üretiminde önemli rol oynamaktadır. Hatta balık protein hidrolizati Fransa'da, keçi, kuzu ve domuzların süt ile beslenmelerine ikame olarak kullanılan bir üründür. Balık protein hidrolizatının ileride daha fazla ticari uygulamalarda karşımıza çıkacağı muhtemeldir.

Avrupa'da balık protein hidrolizati yakın zamana kadar insan tüketimine yönelik ürünler için koku ve acı aromalarından dolayı ticari olarak üretilmemiştir. Fakat doğru enzim seçimi ve proteoliz derecesinin kontrol edilmesi ile bu olumsuzluklar ortadan kaldırılmıştır (Archer *et al.* 2001).

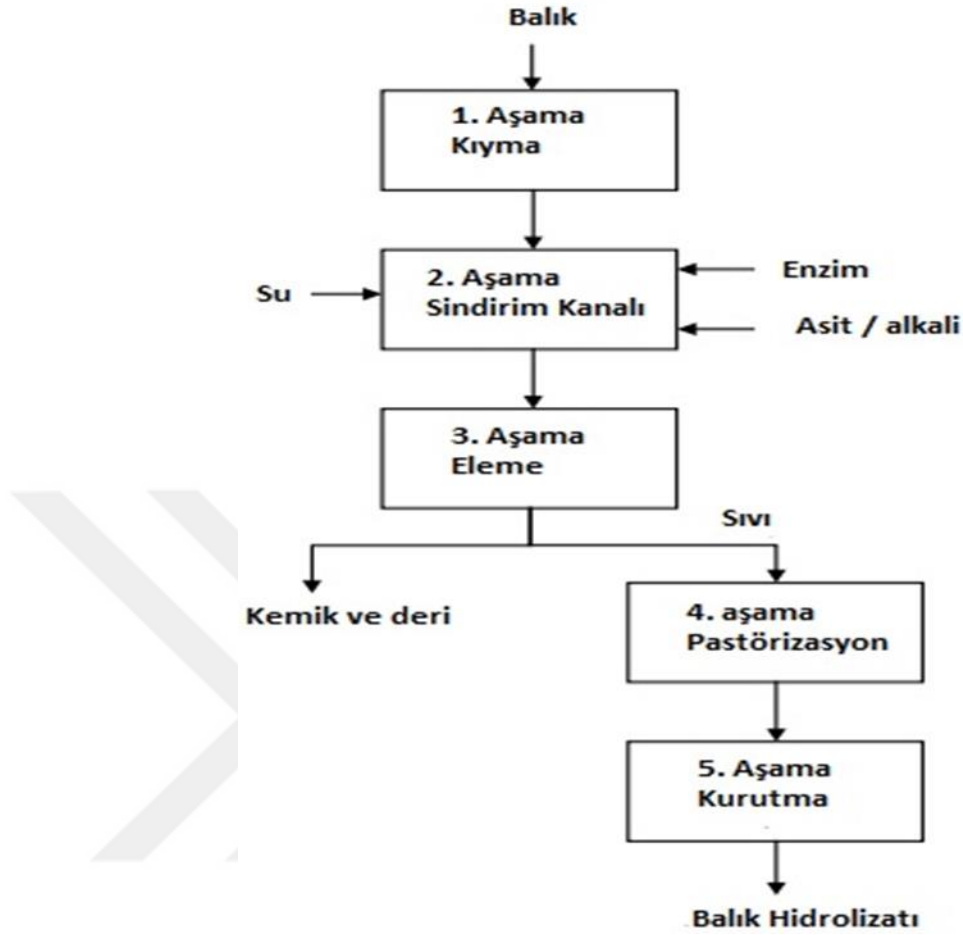
Çizelge 1.2. Balık protein hidrolizatını üretmek için kullanılan enzimler (He *et al.* 2013)

| Enzimler | Köken | Özgünlük |
|-----------------------|-----------------------------------|---|
| Alcalase | <i>Bacillus licheniformis</i> | Dar, çoğunlukla hidrofobik amino asitler için |
| Neutrase | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> | Dar, Ağırlıklı olarak Leu ve Phe için |
| Papain | <i>Papaya</i> | Geniş, endoproteaz |
| α -kimotripsin | Sığır pankreasları | Thr, Trp, Phe, Leu'nin C-terminali |
| Fluvourzyme | <i>Aspergillus oryzae</i> | Endoproteaz ve Eksoproteaz karışımı |

Balık protein hidrolizatları farklı yollarla elde edilebilmektedir. Bunlar;

- Balık proteinlerinin asit hidrolizi

Asit hidrolizi, proteinlerin hidrolizi için en sık kullanılan işlemdir. Sürecin kontrolü zor olmasına karşın yine de proteinleri hidrolize etmek için tercih edilen yöntemdir (Ghaly *et al.* 2013). Asitle hidroliz, normal olarak hidroklorik asit ve bazı durumlarda sülfürik asit ile yapılabilir (Blendford 1994). Bu hidroliz koşulları altında aspargin ve glutamin sırasıyla aspartik asit ve glutamik aside tamamen tirozin, serin ve treonine ise kısmen hidrolize edilir (Ghaly *et al.* 2013).



Şekil 1.4. Balık protein hidrolizatının üretim işlemi (Kim *et al.* 2014)

- Balık proteininin alkalın hidrolizi

Proteinlerin hidrolizi, sodyum hidroksit, potasyum hidroksit veya baryum hidroksit kullanılarak da gerçekleştirilebilir. Alkalın işlem özellikle triptofan tayini için kullanılmaktadır (Ghaly *et al.* 2013). Bu yöntemin en büyük dezavantajı serin, treonin, arginin ve sisteinin yok edilmesi ve diğer tüm amino asitlerin inaktif hale getirilmesidir (Gupta *et al.* 1997).

- Balık proteininin enzimatik hidrolizi

Balık proteinlerinin; alkalaz, pronaz, kollajenaz, pepsin, papain, protameks, bromelain, kimotripsin gibi uygun enzimlerle enzimatik hidrolizinin sonucunda oluşan balık protein hidrolizatlarıdır.

- Balık proteinlerinin mikrodalgayla indüklenen hidrolizi

Bu metodun balık proteinleriyle kullanımı hakkında literatürde çok fazla bilgiye rastlanılmasa da yöntemin sığır serum albümin, kazein, jelatin ve rekombinant insan interferon $\alpha 2$ ile balık protein hidrolizinde uygulama potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir (Aylangan ve Öztan 2008; Ayana ve Turhan 2010; Ghaly *et al.* 2013).

Ayrıca balık atıklarından elde edilen balık proteini hidrolizatları aşağıdaki gibi belirtilmiştir:

• Balık derisi protein hidrolizatı

Balık endüstrisindeki yan ürün atıklarından olan balık derisi, zengin bir kollajen ve jelatin kaynağıdır. Balık derilerinin yan ürün atıklarının balık protein hidrolizatlarına dönüştürülme potansiyelini gösteren birkaç çalışma bulunmaktadır. Bir takım çalışmalar, farklı türlerden balık derilerinden protein hidrolizatlarının hazırlanabileceğini bildirmiştir. Bunlar arasında çim sazanı (*Ctenopharyngodon idella*), kobe balığı (*Rachycentron canadum*), tilapiya (*Oreochromis niloticus*), kahverengi şerit kırmızı balıklardan (*Lutjanus vitta*), dil balığı (*Solea solea*), alaska mezgiti (*Theragra chalcogramma*), kırmızı bigeye (*Priacanthus macracanthus*), kanal yayınları (*Ictalurus punctatus*), kara fıstık balığı (*Aphanopus carbo*), at uskumru (*Magalaspis cordyla*) ve kaplan bıçağı (*Otolithes ruber*) gibi balıklar yer almaktadır (Chalamaiah *et al.* 2010).

- Balık kafasından protein hidrolizatı

Balık işleme endüstrisi için balık kafaları önemli miktarda protein içeren yan ürün ve atıklar olarak görülmektedir. Balık protein hidrolizatları, çeşitli türlerdeki balık kafalarından somon (*Salmo salar*), kırmızı somon (*Oncorhynchus nerka*), sardalya (*Sardinella aurita*) hazırlanmaktadır (Chalamaiah *et al.* 2010).

- Balık kas protein hidrolizatları

Balıklardaki protein açısından zengin olan koyu kaslar, oksitlenme ve tatsız durumlarından dolayı sınırlı kullanıma sahiptirler. Çoğunlukla düşük piyasa değerli ürünler olarak değerlendirilen, protein açısından oldukça zengin olan bu atıklar özellikle son zamanlarda protein hidrolizatlarına dönüştürülerek son derece değerli ürünler haline getirilmektedir (Hsu 2010; Chalamaiah *et al.* 2010).

- Balık iç organları ve kemiklerinden elde edilen protein hidrolizatlar

Çeşitli endüstriyel uygulamalar için bazı istisnai özelliklere sahip olabilen protein hidrolizatlarının üretimi için farklı bir hammadde de balık iç organları ve kemikleridir (Rajapakse *et al.* 2005; Je *et al.* 2007; Chalamaiah *et al.* 2010; Lee *et al.* 2010; Nazeer *et al.* 2011; Chalamaiah *et al.* 2012).

Balık endüstrisi yan ürünleri protein, yağ, kitin ve mineralce zengin olmaları nedeniyle biyoaktif materyaller olarak son yıllarda kullanılmaya başlamış ve yan ürün işleme teknolojisinin değerini arttırmıştır. Hayvansal ve bitkisel kaynaklı olan proteinler, organizmada sindirim işlemine tabi tutulduktan sonra tekrar yeni aminoasitler veya organizma için gerekli aynı zamanda hayati alanlarda (kan proteinlerinde, hormonlarda, enzimlerde, miyozinde, vs) kullanılmaktadır (Aylangan ve Öztan 2008; Ayana ve Turhan 2010).

2. Proteinler:

Proteinlerin organizmalarda ve hücrelerde enzimatik, yapısal ve çok karmaşık rollere sahip olduğu bilinmektedir. Ancak son yıllarda kullanılan biyoinformatik yazılımlarla proteinlerin aminoasit dizilerine ulaşılabilir (Sinan vd. 2006). Protein, dokuların temel bileşeni olup esansiyel bir besin maddesidir. Proteinler, organizmanın ana unsurunu oluşturması sebebiyle günlük olarak belirli ölçüde alınması gerekmektedir. Tüm organizmalarda olduğu gibi balıklar içinde yaşamsal önemi olan vücut fonksiyonlarının gerçekleştirilmesinde ve yıpranmış dokuların yenilenmesinde proteine ihtiyaç duyulmaktadır. Proteinler doku kuru maddesinin % 45-75'ini oluşturur, bu nedenle yeni dokuların sentezi için proteine gereksinim duyulmaktadır. Proteinlerin sindiriminden başlayarak, bunların sentez ve ayrışma uğramaları ve bu arada oluşan ara ürünlerin dışarı atılmasına kadar geçen tüm olaylara "protein metabolizması" denilmektedir. Karbonhidrat ve yağ metabolizmasından farklılık göstermektedir. Türe göre değişmekle birlikte balıkların mide ve barsaklarda pepsin, tripsin, peptidaz, dipeptidaz ve polypeptidaz gibi enzimlerle amino asitlere dönüşen proteinler, mukozal hücreler vasıtasıyla kana absorbe olurlar. Absorbe edilen amino asitlerden öncelikle esansiyel olmayan amino asitler, yapısal proteinler, hormon ve enzimler sentezlenir. Daha sonra amin, purin, primidin, keratin ve kan hücreleri gibi nitrojen içerip protein yapısında olmayan ürünlerin sentezi yapılır. Yapısal ihtiyaçlar karşılandıktan sonra geriye kalan amino asitler deaminasyona uğrayarak α -keto asit ve amonyağa dönüşür. Oluşan bu ürünler daha sonra trikarboksilikasit (TCA) ve ornitin döngüsü gibi metabolik yolları izlerler (Ası 1999; Aylangan ve Öztan 2008; Doğan ve Erdem 2008; Ayana ve Turhan 2010).

3. Lipidler:

Karbonhidrat ve proteinlerle birlikte organizmaların organik maddelerinden olan lipidler, organizmanın önemli yakıt kaynaklarıdır. Lipidler, suda çözünmeyen maddelerdir ve organizmada hücre zarının yapısını oluşturur. Kolesterolde elde edilen hormonlar, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmalarında rol oynamaktadır.

Besinlerle organizmaya alınan yağların, büyük bölümü trigliseritler olmak üzere fosfolipidler formunda organizmaya dâhil olurlar. Yağların sindiriminde ester bağlarının hidrolitik olarak parçalanmasında etkili olan ve ince bağırsaktan sentezlenen lipaz enzimi etkili olmaktadır. Hidroliz işlemi sonunda trigliseritler, monogliseritler ve serbest yağ asitlerine ayrılmaktadır. Ancak lipaz enzimi, trigliseritlerin ester bağlarına etki etmemektedir. Benzer şekilde kolesterol esterleri kolesterol esteraz enzimi ile fosfolipidlerde lipaz ile serbet yağ asitleri ve fosfogliserite bağırsakta dönüşür. (Ası 1999; Baltacı 2009).

4. Kromatografi:

Bir karışımda bulunan maddelerin, sabit ve hareketli faz olan formlarından, sabit fazın yüzeyine veya içine uygulanarak, sıvı veya gaz halindeki hareketli faz aracılığıyla maddelerin hareket etmesi sonucunda birbirlerinden ayrılması veya saflaştırılması yöntemine kromatografi denilmektedir. Moleküllerin tutunma (adsorpsiyon), dağılma, iyon değişimi, ilgi (afinite) özellikleri ya da molekül ağırlıklarındaki farklılıklarından yararlanılarak geliştirilmiş bir yöntem olup ayrılma mekanizması, uygulama biçimi ve faz tiplerine göre isimlendirilmektedir (Parlak 2016).

a. Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografi (YPİTK)

İnce tabaka kromatografisi; bir karışımdaki bileşenleri birbirinden ayırarak kaç madde olduğunu belirlemek, hedef maddenin karışımda olup olmadığını ve ürünün saflığını kontrol etmek için kullanılan, basit, ucuz, hassas, hızlı ve pratik bir yöntemdir. Çözücü gücü yüksek ve hızlı sonuç alınabilmesinden dolayı sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu kromatografik yöntemler arasında yer bulan bir diğer metod ise yüksek performanslı ince tabaka kromatografi (YPİTK) olup, yüksek hassasiyet, kesinlik ve doğruluk gibi çeşitli validasyon parametrelerine sahip olmakla birlikte geleneksel İTK ile kıyaslandığında birçok avantajları öne çıkmaktadır. YPİTK'nin gelişiminde, plaka teknolojisinin gelişimi etkin rol oynamış ve geleneksel İTK plakaları ile arasında önemli farklar oluşturmuştur. Bir başka özellik olarak, partikül büyüklüğü azaltılarak dağılımın daraldığı, bunun da etkin ayırım sağladığı, tabaka kalınlığı azaltılarak, bir

kerede analizi yapılacak numune sayısı yaklaşık 5 kat artması ve kontrollü bir tatbik sağlaması kullanıcı hatasını ve sistem deformasyonlarını engellemektedir. Benzer şekilde tankın çevresel etkilerden (nem ve sıcaklık kontrol üniteleri ile) izole edilmesi, standardizasyon için önemli bir avantaj sağlamaktadır. Bilgisayar ile hem kromatogram hem UV spektrumları kaydedilmesi maddelerin Rf değerinin yanı sıra, UV kütüphanesi de tanımlanmasında yardımcı olmaktadır. Elde edilen kromatogramdaki pikin alan ve/veya yüksekliğinden faydalanılarak standart çözeltiler ile kıyaslanması sonucunda miktar tayini yapılabilmektedir (Türkmen 2008; Parlak 2016).

5. Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)

Elektroforetik metotlar genellikle büyüklük, yük ve 3 boyutlu yapı (konformasyon) bakımından yüklü durumda olan makromoleküllerin yüksüz bir ortamda birbirinden ayrılması için kullanılmaktadır. Moleküller sahip oldukları elektron yüküne göre elektroforez esnasında jel üzerinde zıt elektrota doğru hareket ederler. Benzer şekilde protein ya da DNA/RNA elektriksel bir ortamda yükü ile doğru orantılı ancak şekli ve büyüklüğü ile ters orantılı bir hızda hareket ederler (Parlak 2016).

SDS-PAGE metodu en yaygın olarak uygulanan protein elektroforez yöntemidir. Bu yöntem daha çok proteinlerin molekül ağırlıklarının saptanmasında, protein saflığının kontrolünde, proteinleri fraksiyonlamada, saf proteinin alt yapısının incelenmesinde kullanılmaktadır. Bu teknik yüksek çözünürlük sağlaması, kolay tekrarlanabilirliği ve proteinlerin elektroferogramlarda molekül ağırlıklarına göre hareket etmesinden dolayı oldukça avantajlıdır (Ateş vd. 2008; Ünlüsayın vd. 2009a; Söbeli ve Kayaardı 2014).

Amino asit içeriği yönünden zengin olan hidrolizatların fonksiyonel materyal olarak kullanımında hidrolize proteinin molekül ağırlığı en önemli faktördür. İstenen moleküler büyüklük ve fonksiyonel özellikteki bir hidrolizatı veya peptid fraksiyonunun elde edilmesi için kullanılacak yöntemlerle farklı olmakla birlikte bu proteinlerin tespitinde farklı yöntemlerden yararlanılmaktadır (Ekici ve Akyüz 2003; Aylangan ve Öztan 2008; Ayana ve Turhan 2010). SDS-PAGE tekniğini et proteinlerinin ayırımında kullanmış ve bazı çalışmalarla da et karışımları ve ürünlerindeki et türlerinin

belirlenmesinde çok uygun bir teknik olduğu kanaatine varılmıştır (Ekici ve Akyüz 2003)

Özellikle son yıllarda hidrolizat üretimi ve bu hidrolizatların endüstride kullanımları artış göstermektedir. Bu çalışmada, su ürünleri işleme sektörü için ciddi bir potansiyeli bulunan kas ve iç organların, daha ekonomik ürünler olan hidrolizatlara dönüştürülmesi planlanmış ve alabalık işleme atıklarından enzimatik olarak elde edilen hidrolizatların protein ve lipit profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Laktik asit üretiminde balık hidrolizatlarının daha yüksek performansa sahip olması, besinsel potansiyel oluşturabileceği, fiyatının düşük olması ve bunlara ilave olarak ta çevre kirliliğine çözüm getireceği konusunda oldukça önemli vurgular yapılmıştır (Kılınç 2007).

Çetiner (2008), karışık ve sadece kas olan kalamar işleme artıklarından elde ettiği hidrolizatlarda 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ile yapılan antioksidan aktivite testlerinde örneklerin antioksidan içeriklerinin yüksek olduğunu, elde edilen hidrolizatların 30 dakikalık hidroliz sonunda moleküler kümelenmenin tamamen kaybolduğunu (>116.25 kDa) 66,2 ve 45 kDa da iki moleküler kümelenme olduğunu, aktin parçalanmasında (45 kDa) 2 saate kadar çok ufak bir azalma saptandığını, geri kalan moleküler kümelenme kapasitelerinin de düşük moleküler ağırlıklı peptit ve serbest amino asitler olduğunu bildirmiştir.

Souissi *et al.* (2007) sardalya (*Sardinella aurita*) balıklarının baş ve iç organlarını kullanarak farklı hidroliz derecelerinde (6,62, 9,31 ve 10,16) enzimatik olarak hazırladıkları balık sıvı hidrolizatlarında %73-75 protein ve düşük düzeyde de yağ belirlemişlerdir. En iyi sonuçların 6,0–10,0 pH aralığında bulunan 10,16'lık grupta mükemmel çözünürlük (%100) seviyesinde elde edildiğini bildirmişlerdir.

Tatlısu sazanı olan *Catla catla*'nın viseral atıklarından yüksek bir hidroliz derecesi elde etmek için enzimin %1.25 (v/w), sıcaklığın 55°C ve hidroliz süresinin 165 dakika olması durumunda optimize koşulların oluştuğunu ve elde edilen protein hidrolizatlarının da dengeli balık diyetlerinde bir bileşen olarak uygulama potansiyeline sahip olabileceği rapor edilmiştir (Bhaskar and Mahendrakar 2008).

Yayın balığı derisinden çözünür ve çözünmez protein hidrolizatları izole edildiği ve protein hidrolizatlarının reolojik ve fonksiyonel özelliklerinin tanımlandığı bildirilmiştir

(Yin *et al.* 2010), Benzer olarak Aleman *et al.* (2011)'de tuna ve halibut deri jelatinlerinden protein hidrolizatları hazırlamaya çalışmışlardır.

Foh *et al.* (2010), tarafından yapılan bir çalışmada Tilapia (*Oreochromis niloticus*) kıyılmış etinden Alcalase 2.4 L (Alc), Flavourzyme (Flav) ve Neutrase (Neut) enzimleri kullanarak elde ettikleri protein hidrolizatlarında Flavourzyme (Flav) ve Neutrase (Neut) mın daha iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.

Derin su mezgiti (*Micromesistius poutassou*) baş ve bağırsaklarından farklı hidroliz derecelerinde (%2,5, %5, %10 ve %15) alcalase 2,4 L ile elde edilen protein hidrolizatlarının işlevsel ve biyokimyasal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, yağ bağlama kapasitesinin artan hidroliz derecesi ile düştüğü rapor edilmiştir (Geirsdottir *et al.* 2011).

Aleman *et al.* (2011), orkinos ve halibut derilerini kullanarak alcalase enzimi ile protein hidrolizatları elde etmişler ve elde edilen hidrolizatların aminoasit bileşimi, antioksidan özellikleri, ABTS radikal temizleme özelliği ile negatif korelasyona sahip olduğunu gözlemişlerdir.

Bakalorya ile yapılan bir çalışmada farklı yöntemler kullanılarak elde edilen protein hidrolizatları arasında protein içeriğinin 807-860 g kg⁻¹ ve hidroliz derecesinin de %19 - %22 arasında olduğu bildirilmiştir. Bütün balık protein hidrolizatlarının peptit profillerinin çok benzer olduğu da rapor edilmiştir (Pires *et al.* 2012).

Benhabiles *et al.* (2012) çalışmalarında ham pepsin kullanarak sardalya katı atıklarından balık protein hidrolizatının üretimini optimize etmek ve takip akışını yapmak amacıyla ultrafiltrasyon ünitesine bağlanmış bir biyoreaktörde çalışmışlardır. Balık katı atığın enzimatik hidrolizinde pH 1,5-2 ve 6 saatlik inkübasyon süresi ile 48°C sıcaklığın enzimatik reaksiyon için en uygun koşullar olduğunu bildirmişlerdir.

Deniz balıklarının enzimatik reaksiyonlarla hidrolizat eldesinde kullanımına yönelik yapılan çalışmada *Collichthys niveatus* balık kasları Alcalase, Neutrased, Protamex ve Flavourzyme enzimleri ile üretici firma protokolüne uygun olarak muamele edilmiş, test edilen proteazlar arasında, Neutrased'nin en çok hidroliz işlemini katalize ettiği ve tat amino asitlerini en yüksek oranda içerdiği bildirilmiştir. Çalışmada optimum sıcaklık, pH ve enzim/substrat oranları sırasıyla 40,7°C, 7,68 ve %0,84 olduğu, majör amino asitleri ise tiryonin (%10,92), glutamik asit (%10,85), fenilalanin (%10,79), triptofan (%9,86) ve lizin (%9,76) kaydedilmiştir (Shen *et al.* 2012).

Alcalase ve flavourzyme enzimleri kullanılarak balık protein hidrolizatı elde edilen bir çalışmada, alcalase enzimi ile üretilen hidrolizatların protein miktarının (%82,66) flavourzyme enzime göre (%73,51) daha yüksek olduğu, bunun yanı sıra çözünürlük, emulsifiyon ve köpürme özellikleri açısından da alcalase enziminin daha iyi sonuçlar verdiği Muzaiifa *et al.* (2012) tarafından rapor edilmiştir.

Charoenphun *et al.* (2013), tilapia kıymasından 50°C'de pH 8'de 6 saat süreyle Alcalase 2.4 L enzimi kullanarak protein hidrolizatı elde ettikleri çalışmalarında en yüksek kalsiyum bağlama kapasitesini, 7,14–66,7 lg mL⁻¹ min⁻¹ aralığında olduğunu ve elde edilen proteinin %27.7'lik hidroliz derecesinde 65 mg/g protein olmuştur. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, tilapia proteininin kalsiyum bağlayıcı peptidler için iyi bir kaynak olduğunu önermektedir.

Sous vide tekniği ile elde edilen salmon hidrolizatlarının su tutma kapasitelerine yönelik yapılan çalışmada, farklı oranlardaki (%0, %7, %10 ve %14) protein ve tuz (%1,9, %0,6, %0,2 ve %0) konsantrasyonlarının kombinasyonlarında en iyi sonucun %14 hidrolizat ve %0,2 tuz konsantrasyonu ile elde edildiği bildirilmiştir (Ibarra *et al.* 2013).

Elavarasan *et al.* (2014) hint sazanı (*Catla catla*)'ndan farklı enzimler (alkalaz, bromelain, flavorzim ve protamex) kullanarak hazırladıkları protein hidrolizatlarında bromelainin yüksek 2, 2 difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal temizleme etkinliği olduğunu bunu sırasıyla flavorzim, protamex ve alkalazın takip ettiğini tespit

etmişlerdir. Ayrıca Alcalase, bromelain, flavorzim ve protamex için linoleik asit peroksidasyon inhibisyonunu sırasıyla $54\pm 4,75$, $50\pm 2,60$, $49\pm 3,00$ ve $36\pm 6,15$ olarak aydettmişlerdir.

Akdeniz'de farklı balık türleri (*Sardina pilchardus*, *Pagellus acarne*, *Trachurus mediterraneus*, *Boops boops* ve *Scyliorhinus canicula*) protein hidrolizatı elde edilmesi için hammadde olarak değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada, elde edilen örneklerin hidrolizat değerlerinin %13,2 ila %21,0 arasında, protein içeriklerinin ise %60,7 - %89,5 arasında değiştiği, peptit profilinin ise *Scyliorhinus canicula* hidrolizi haricinde çok benzer olduğu bildirilmiştir (García-Moreno *et al.* 2014).

Jiang *et al.* (2014), yuvarlak balıkların (*Decapterus maruadsi*) kaslarından alcalase, nötr proteaz, papain, pepsin ve tripsin enzimlerini kullanarak hidrolizat elde etmişler. Alcalase ile hazırlanan hidrolizatın (RSH) yüksek, ultrafiltrasyon sonrasında, RSH-III fraksiyonunun (MW <5 kDa) en güçlü antioksidiv aktivite sergilediğini bildirmişlerdir. Ayrıca RSH-III, jel filtrasyon kromatografisi (Sephadex G-15) ile saflaştırılan formlarında ise dört fraksiyona (A, B, C ve D) ayrıldığı ve saflaştırılmış peptidlerin, matris destekli lazer desorpsiyon reaksiyonunda His-Asp-His-Pro-Val-Cys (706.8 Da) ve His-Glu-Lys-Val-Cys (614,7 Da) yapılarının gözlemlendiğini kaydetmişlerdir.

Tilapia balığının (*O. niloticus*) fileto yapımında elde edilen bazı yan ürünlerinin (deri, kemik, iskelet, kafa ve kuyruk gibi) enzimatik olarak hidrolizat tozuna dönüştürülmesi sonucunda yüksek protein (%62,71) ve esansiyel amino asit (199,15 mg / g) içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Roslan *et al.* 2014).

Silva *et al.* (2014), tilapia (*O. niloticus*) işleme atıklarından Alcalase enzimi kullanarak üç farklı üretim koşulunda (%0,5 (v/v), FPH 100, 100 mg doku/mL ve FPH600, 600 mg doku/mL) 4 saatlik reaksiyon sonrasında balık protein hidrolizatı üretmişler, FPHcom, FPH100 ve FPH600 sistemlerinden maksimum hidroliz yüzdelerinin sırasıyla $34,73\pm 1,44$, $29,21\pm 0,79$ ve $41,66\pm 1,33$ olduğunu bildirmişlerdir.

Somon pektoral yüzgeç artıklarından pepsin hidrolizi ile elde edilen protein hidrolizatının anti-enflamatuar etkisinin araştırıldığı çalışmada, lipopolisakkarit tedavisi, RAW264.7 hücrelerinde nitrik oksit (NO) ve prostaglandin E2 (PGE2) üretimini uyardığı, anti-enflamatuar bir tripeptit (PAY) tedavisinde NO üretimini %63,80, PGE2 %45,33 oranında inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca Western blot analizlerinde, PAY'nin NO ve PGE2 üretiminden sorumlu olan induklenebilir nitrik oksit sentaz ve siklooksijenaz-2'nin protein ekspresyonunu belirgin olarak baskıladığı da araştırmacılar tarafından ortaya konulmuştur (Ahn *et al.* 2015).

Choe *et al.* (2016) yassı balık yan ürünlerinden Protamex ile yüksek hidrostatik basınç ve ribozla glikosile şekerli suyla nötrofizyolojik protein hidrolizatları elde ederek, lipopolisakkarid (LPS) uyarılmış RAW 264.7 fare makrofajında, glikozile balık yan ürün protein hidrolizatının (GFPH) anti-inflamatuar etkilerini araştırmışlardır. Yassı balık yan ürünlerinin latent biyoaktif kaynakları olduğunu ve GFPH'nin çeşitli inflamatuvar hastalıkların tedavisinde terapötik bir madde olarak potansiyele sahip olabileceğini ifade etmişlerdir.

Antioksidan içeriği ve tirozinaz önleme gibi sağlık açısından faydalı biyolojik aktivitelerin araştırıldığı bir diğer çalışmada, kritik su hidrolizi ile hazırlanan kolyoz (*Scomber japonicus*) kas protein hidrolizatları araştırılmıştır. Bu amaçla 140°C'de 5 dakika boyunca kritik olmayan hidrolizden sonra, *S. japonicus* kas proteininin %59,76'sı hidrolize edildiği, tepki yüzeyi metodolojisinin sonuçlarına göre ise, reaksiyon sıcaklığı ve tepki süresi düştükçe verimin yüksek olduğu da bildirilmiştir. En yüksek 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikal temizleme aktivitesi (%90,63), 140°C'de 5 dakika süreyle işlem gören hidrolizatlarda ve en yüksek tirozinaz önleme aktivitesi (%65,54) ise 15 dakika boyunca 200°C işlem gören gruplarda belirlenmiştir. Ayrıca sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi ile kas proteinlerinin moleküler ağırlık dağılımlarında da değişimlerin olduğu, yararlı biyolojik aktiviteler açısından kısa süreli (5-15 dakika) uygulamaların daha iyi sonuçlar verdiği kaydedilmiştir (Choi *et al.* 2016).

Nil tilapia (*O. niloticus*) fileto atıklarından Alcalase enzimi ile farklı hidroliz süreleri (40-80-120-160-200 ve 240 dk) denenerek protein hidrolizatları üretilmiş ve bir gıda matrisine dahil edilmiştir. Çalışmada, hidrolizasyon derecelerini 40 dakika için %19,5, 160 dakikada için 24,85 ve 240 dakika reaksiyonda ise %25,72 olarak belirlemişlerdir (Bernardi *et al.* 2016).

Witono *et al.* (2016) bir bitki türü olan Biduri (*Calotropis gigantea*) proteazlarını kullanarak Wader (*Rasbora jacobsoni*) balığından protein hidrolizat (WPH) üretmek amacıyla uyguladıkları farklı zaman (0, 1,5 ve 3 saat) ve enzim konsantrasyonlarının (%1, %2 ve %3 (v/w)) hidrolizatların kimyasal ve biyokimyasal özelliklerinde farklılıklara sebep olabileceğini bildirmişlerdir. Buna ek olarak, en yüksek proteolitik aktivite 3 saatte ve %3 (v/w) enzim konsantrasyonunda gerçekleştiğini elde edilen WPH 65,90 mg / ml seviyesinde yüksek protein çözünürlüğüne ve %12,72 (a/a) oranında ise glutamat asitler içeriğine sahip olduğunu kaydetmişlerdir.

Asit konsantrasyonu ve hidroliz zamanının Boarfish (*Capros aper*) protein hidrolizatlarının serbest amino asit içeriğine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, Alcalase ve Proteaz ön-muamele edilmiş numuneler için serbest amino asitler ve taurin seviyesi önemli bulunmuştur. HCl konsantrasyonu serbest amino asitlerin verimine bakılmaksızın olumsuz bir etki yaptığı, asit hidrolizinden sonra elde edilen protein hidrolizatlarının ortalama moleküler ağırlığında belirgin azalmalar olduğu, amino asitlerin salınmasını ve/veya proteinlerin daha küçük peptidlere indirgeniği belirtilmiştir. Bu çalışmada, asit hidroliziyle takiben enzimatik ön-muamelenin yüksek serbest amino asit ve düşük molekül ağırlıklı peptitlerin oluşumuna neden olduğu da ifade edilmiştir (Ojha *et al.* 2016).

Teixeira *et al* (2016), balık protein hidrolizatlarının antioksidan aktivitesinin hazırlanma şekline bağlı olarak insan sindirim sisteminde değişebileceğini ifade etmiştir. Bu amaçla Berlam balığı (*Merluccius capensis*) hidrolizatlarının üç farklı yöntemle hazırlanan antioksidan özelliklerini değerlendirmiş, hazırlama yönteminin şelatlama, DPPH ve

ABTS üzerinde etkili olduğu ve hidrolizatların genel olarak gastrointestinal sindiriminin antioksidan özelliklerini arttırdığını bildirmişlerdir.

Küresel balık işleme sanayileri, işlenmiş balıkların %60'ından fazlasını oluşturan balık atıklarını imha etmektedir. Çevre kirliliği ve atık problemleri yerine, bu atıkların silaj, ve balık unu olarak balık üretimine kazandırılması hatta ve hatta proteinler, hidrolizatlar, biyoaktif peptidler, kollajen ve jelatin gibi katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi önemli bir konudur. Protein hidrolizatları (FPH) řu anda balık atıklarının endüstriyel potansiyelini maksimize etmeye odaklanmaktadır. Bu ürünlerin amino asit içerikleri en büyük ilgi görmektedir. FPH'lerin işlevsel ve biyoaktif özelliklerine ilişkin araştırmalara yoğunlaşılması gerekliliği ifade edilmiştir (Halim *et al.* 2016).

Morales-Medina *et al.* (2016) balık yağının mikrokapsülasyonu için balık protein hidrolizatlarının (FPH) işlevselliğini araştırılmışlardır. Sardalya (*Sardina pilchardus*) ve at uskumrusundan (*Trachurus mediterraneus*) aldıkları kas proteinlerini Alcalase veya tripsin kullanılarak hidrolize etmişler ve %5'lik bir hidroliz derecesine sahip FPH püskürtme-kurutmayla fiziksel olarak stabil emülsiyonlar haline getirmişlerdir. Mikrokapsülasyon etkinliğinin $98\pm 0,1$ olduğunu ve kapsüllenmiş yağın on iki hafta boyunca oksidatif stabilitesini koruduğunu rapor ederek FPH'nin peptitlerin moleküler yapısı ve bunun protein değişikliği gibi durumlarının incelenmesi gerekliliğini bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada, mantar *Trichoderma harzianum*'dan ekstrasellüler nötr bir proteazın saflaştırılması ve biyokimyasal tanımlaması yapılarak enzim daha sonra, antibakteriyel peptidlerin üretiminde potansiyel uygulama açısından araştırılmıştır. Saflaştırılmış serin proteazı (Th-Proteaz) kullanılarak hazırlanan küçük kırmızı akrep balığının (*Scorpaena notata*) iç organlarından protein hidrolizatı elde edilmesi ve hidrolizatın in vitro antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesinde kullanılarak yüksek bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmiş ve balık protein hidrolizatından doğal antibakteriyel peptidlerin üretilebileceği kaydedilmiştir (Aissaoui *et al.* 2017).

Wu *et al.* (2017) somon balıkları ile yaptıkları çalışmada altı adet deniz ve yedi adet karasal bakteri suşu kullanarak fermantasyonla bakteriyel hücre dışı proteazlar hazırlanarak deri yan ürününden kollajen ve kas proteinlerinin hidrolizinde kullanmışlardır. Kollajenin, kas proteininden çok daha kolay bozunduğunu, kas proteinlerinin hidrolizati, *Pseudo alteromonas* sp'nin ham enzimleri ile hazırlandığını bildirerek bakteriyel ekstrasellüler proteazların bir somon yan ürünün hidrolizinde kullanılabileceğini, kollajen ile karşılaştırıldığında, kas proteinlerinin, antioksidan peptitlerin hazırlanması için enzimatik bir substrat olarak daha uygun olabileceğini ifade etmişlerdir.

Malabar orfoz (*Epinephelus malabaricus*) derisinden balık kolajen peptidlerinin üretilmesi için tepki yüzeyi yöntemi kullanarak hidroliz koşullarının optimize edilmeye çalışıldığı bir araştırmada, pepsin, papain ve sığır pankreastan proteaz hidroliz enzimleri kullanılmıştır. pH, sıcaklık, enzim substrat oranı ve hidroliz derecesi gibi parametrelerle üç farklı enzimin hidroliz süresine olan etkileri araştırılmıştır. Hidroliz dereceleri, pepsin, papain ve proteaz için sırasıyla %10, %20 ve %28 olarak belirlenmiştir. Hidrolizatın moleküler ağırlık dağılımının saptanması için MALDI TOF yöntemi ile kombine edilmiş SDS-PAGE uygulanmış ve hidrolizatın 2 kDa'nın altında molekül ağırlığına sahip peptitleri içerdiğini bildirilmiştir (Hema *et al.* 2017).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırma yeri

Çalışma, Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İç Su Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezinde bulunan İşleme Ünitesi ve Su Ürünleri İşleme Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. İşleme atıkları

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İç Su Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi İşleme Ünitesi'nden temin edilmiştir.

3.1.3. Enzim materyali

Alcalase enzimi ticari bir firmadan (Sigma) temin edilmiştir.

3.1.4. Balık materyali

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İç Su Balıkları Araştırma ve Üretim Merkezi'nde pazar boyutuna gelmiş, fileto yapımında kullanılan alabalıklar kullanılmıştır.

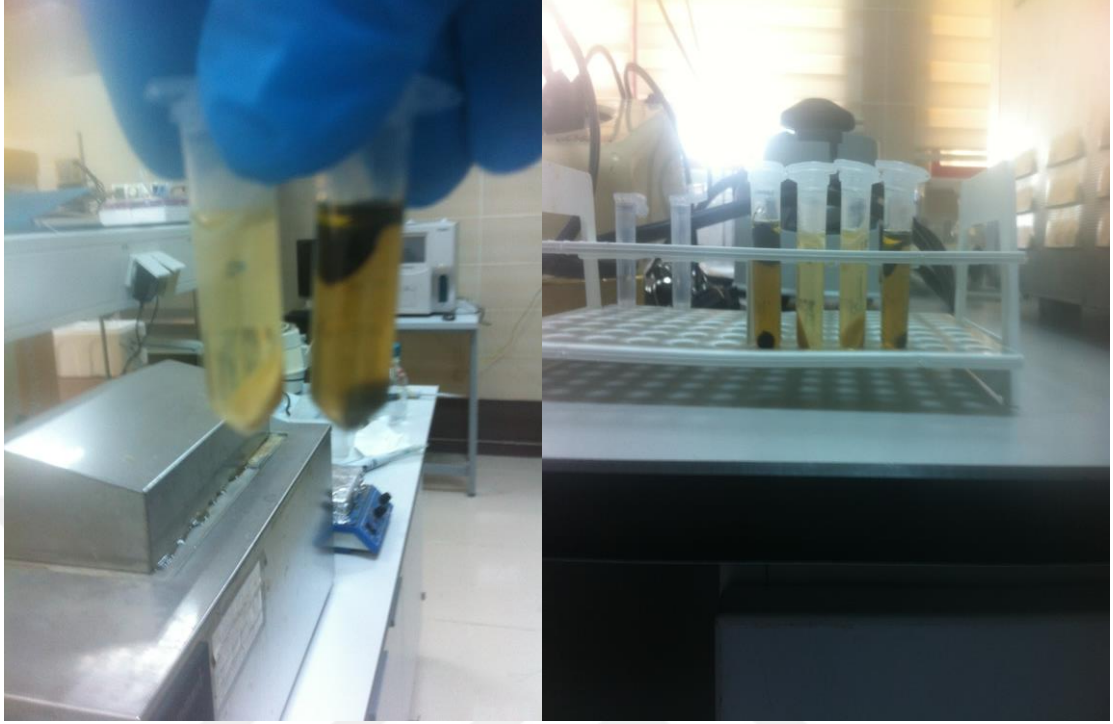


Şekil 3.1. Kas ve iç organlardan oluşan işleme atıkları (Orijinal resim)

3.2. Metot

3.2.1. Su ürünleri atıklarından protein hidrolizi

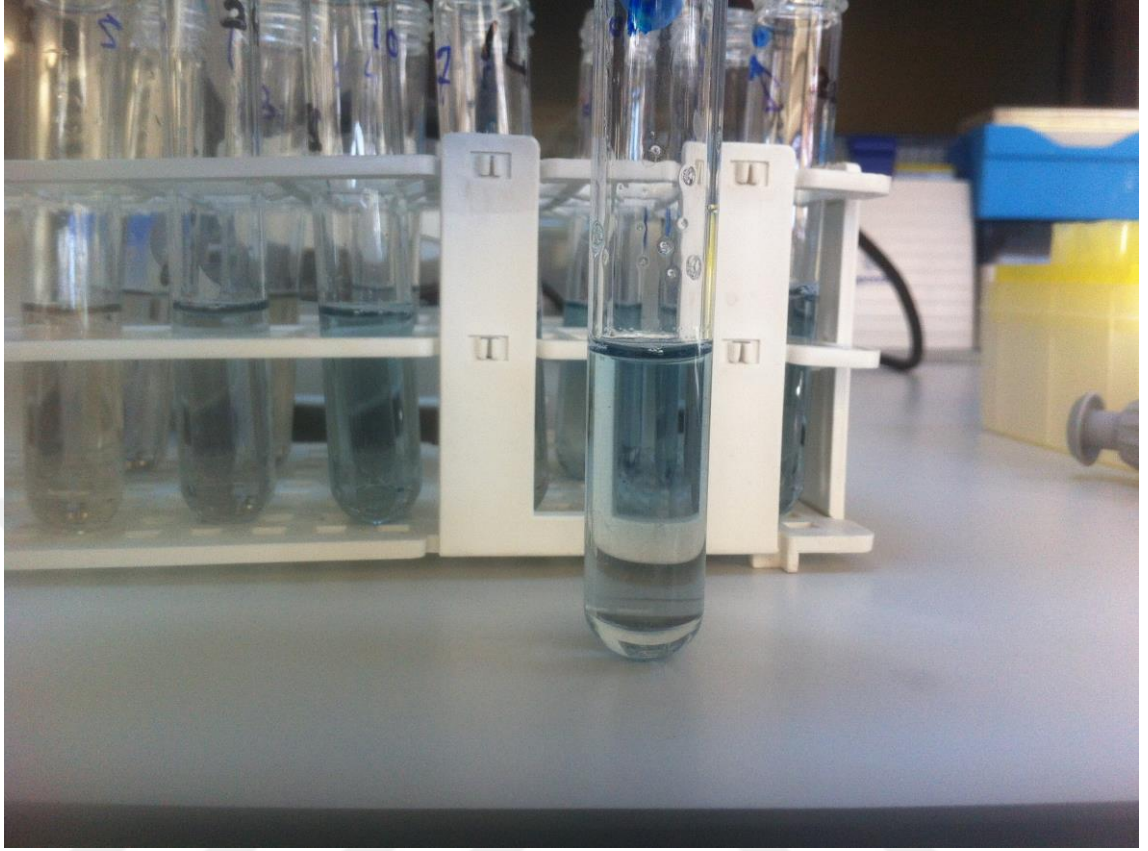
Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İç Su Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi İşleme Ünitesi'nden temin edilen alabalık fileto atıkları (kas ve iç organlar yaklaşık 2kg) 3-4 kez içme suyu ile yıkanarak 200g 'lık parçalara ayrıldı. 200g ağırlığındaki doku örnekleri (kas ve iç organlar) ağırlıklarının 2 katı su ile düşük devirde 1 dakika boyunca parçalandı ve ardından su banyosunda $90C \pm 10$ 'de $20dk \pm 10$ inkübasyonda bırakıldı. Örnekler 2 dk daha homojenize edilerek NaOH ile optimum pH ve sıcaklık ayarlaması yapıldı. Karışım 30 dk bekletildikten sonra Alcalase enzim eklemesi (1,2AU/100g protein) yapıldı. Ardından karışım seçilen 5 farklı zamanlamada (30 dk, 60 dk, 90 dk, 120 dk ve 180 dk) pH=7,5 aralığında 1 N NaOH ile sabitleme yapılarak tutuldu. Daha sonra enzim inaktivasyonu için örnekler $80^{\circ}C$ 'de 20 dk inkübe edilerek soğutma işlemine tabi tutuldu. Soğutma işleminin sonunda örnekler 15000 g $4^{\circ}C$ 20 dk santrifüj edildi. Ependorf tüplerde yağ tabakası (üst kısım) ve kalıntı (dip kısım) arasında kalan orta kısım (sıvı form) hidrolizat olarak değerlendirildi. Örnekler çalışılincaya kadar $-20^{\circ}C$ 'de muhafaza edildi (Çetiner 2008; Benhabiles *et al* 2012; Muzaifa *et al.* 2012; Alimentar 2013; Ibarra *et al.* 2013).



Şekil 3.2. İç organlar ve kas dokuya ait hidrolizatlar (Orijinal resim)

3.2.2. Protein miktarı ölçüm yöntemi

Enzim çözeltilerinin kantitatif protein miktarının ölçülmesinde Lowry yöntemiyle total protein miktarları hesaplanmış olan örneklerde “g” olarak bireysel protein miktarları belirlenmiştir (Lowry *et al.* 1951). Bu yöntemde bakır iyonları protein peptid bağları ile alkali ortamda bir kompleks oluşturur ve bakır indirgenir. İndirgenmiş ortamda yer alan bazı aminoasitler (Tyr, Trp ve Cys) Folin-Fenol reaktifini indirgeyerek renk oluşumuna neden olur. Oluşan rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılı olup 660 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülür.



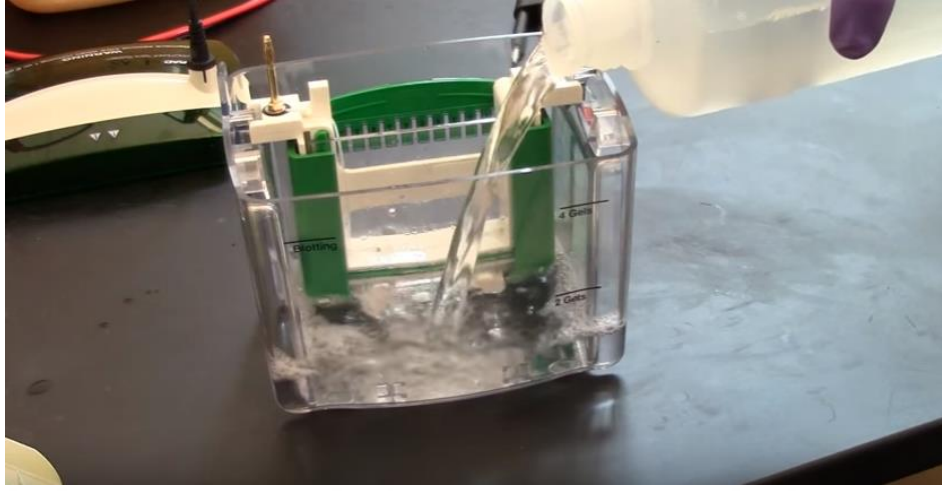
Şekil 3.3. İç organlar ve kas dokuya ait hidrolizatlardan protein tayini (Orijinal resim)

3.2.3. Protein profilinin belirlenmesi

Hidrolizat proteinlerini belirlemek için örnekler bir gün önce -20°C 'den çıkartılarak çözdürülmüştür. Protein profil analizi sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) metodu ile gerçekleştirilmiştir (Laemmli 1970). Eppendorf tüpe alınan 100 μl hidrolizat üzerine 900 μl elektroforez örnek buffer tamponu eklendi. Tüpler iyice karıştırılarak 100°C 'de 1 dk süreyle bekletildikten sonra Laemmli metodu TetraCell BioRad sistemine uyarlanarak SDS-PAGE işlemleri gerçekleştirilmiştir. Jeldeki proteinlerin boyanması için örnekler 2 saat Oriole solüsyonunda bekletildi ve protein bandlarının dansitometrik analizleri gerçekleştirildi (BioRad Oriole user manual).

3.2.3.a. SDS-PAGE Analizi

Düz cam plaka (10x8.5 cm) ile 1,5 mm kalınlığındaki plastik şeritleri (spacer) olan plaka sandviç teşkil edecek şekilde bir araya getirildi. İlk önce rezolving jel 10 ml'lik bir enjektör ile plakaların arasına hava kabarcığı oluşturmadan üst kenara ~2.5 cm kalıncaya kadar dolduruldu. Jelin dökülmesini takiben 1 ml'lik bir enjektör ile jel yüzeyi üzerinde bütanol ile ince bir tabaka oluşturularak düz bir polimerizasyon hattı meydana getirildi. En az 2 saat süreyle polimerizasyon için beklendikten sonra su süzgeç kâğıdıyla uzaklaştırılmış ve kimyasal kompozisyonu stacking jel hazırlanıp, hava kabarcığı oluşturmadan bir enjektör yardımı ile döküldü. Hemen ardından 1,5 mm kalınlığındaki taraklar yerleştirilmiş ve polimerizasyon için en az 3 saat süreyle bekletildi. Sürenin sonunda taraklar çıkarılarak, polimerizasyon artıklarını uzaklaştırmak için numunelerin uygulanacakları kuyucuklar 3 defa tris-glisin elektrod tamponuyla (pH 8,3) yıkanmış ve yıkama sonrası kuyucuklar aynı tampon ile doldurularak, numuneler kuyucuklara 15 µl uygulandı (Laemmli 1970). 20 mA/jel sabit akım modunda yaklaşık 90 dakika süreyle elektroforez işlemi gerçekleştirildi. Süre sonunda jeller oriole solüsyonunda 2 saat süreyle bekletildi ve jel görüntüleme sistemi ile (Bio Rad Gel Doc XR) fotoğrafları çekildi.



Şekil 3.4. Protein analizlerine ait SDS-PAGE görüntüsü (Orijinal resim)

3.2.3.b. Protein standartı

Ticari olarak satın alınan 500 µl'lik kullanıma hazır marker karışımı kullanıldı (Precision Plus Protein™ All Blue Prestained Protein Standart, kat. No: 1610373)

Uygulanışı: Örnek kuyucuklarına 15 µl ilave edilerek 20 mA/jel sabit akımda yaklaşık 90 dakika süreyle elektroforez işlemine devam edildi. Elektroforez sonrası homojenat örneklerine ait jeller coomassie brilliant blue R250 ile boyanmış ve Biorad Gel Doc XR jel görüntüleme sisteminde fotoğrafı çekilerek, ImageLab 4.1 jel analiz programı ile analiz edildi.

$$\text{Nispi göç değeri (Rf)} = \frac{\text{Proteinin göç mesafesi}}{\text{Boyanın göç mesafesi}}$$

3.2.3.c. Proteinlerin molekül ağırlıklarının hesaplanması

Molekül ağırlıkları bilinen standart proteinlerin molekül ağırlıkları ve jeldeki göç mesafeleriyle ilişkili olarak semi-logaritmik bir grafik yardımıyla örnek proteinin molekül ağırlığının tespiti esasına dayanır. Her standart protein için Rf değeri hesaplanmış ve bunun için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

Fotoğrafları çekilen doku proteinlerinin molekül ağırlıkları yukarıdaki prensibe göre, Bio Rad Image Lab. Ver. 5.2.1. programı ile otomatik olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Lipit profilinin belirlenmesi

3.2.4.a. Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi

Yapılan işlem 20 x 10 cm Silika Jel 60 F254 yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (YPİTK) plakası kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hidrolizat (450 µl)

örnekleri üzerine 900 µl n-hekzan/izo-propanol (2:1 (h/h)) karışımı eklendikten sonra (Hara and Radin 1978) yüksek devirde vortekslenerek on dakikalık inkübasyonu takip eden süreçte yeniden vortekslendi. Bu işlem 2 defa daha tekrar edildi. Ardından örnekler 5000g'de 4°C 10 dk santrifüj edilmiş ve üst faz (hekzan fazı) YPİTK plakalarına yüklendi. Plakalara yüklenen lipid sınıfları hekzan: dietiler: formik asit (80:20:2 (h/h/h)) karışımında 7 cm yürütülüp, oda sıcaklığında kurutuldu. Kurutulan bu plakalar üzerine %8 H₃PO₄ içerisindeki %3'lük CuSO₄ püskürtüldü ve 180 °C'deki etüvde yaklaşık 10 dk süreyle yakılarak lipid bantları görünür hale getirildi. YPİTK plakaların Epson Perfection V700 fototarayıcı ile fotoğrafı alındıktan sonra, her bir örneğe ait lipid bantlarının kapladığı alan Phoretix 1D (TL120) yazılımı kullanılarak tespit edildi ve toplam karışımdaki % olarak ifade edildi (Kaynar *et al.* 2013).

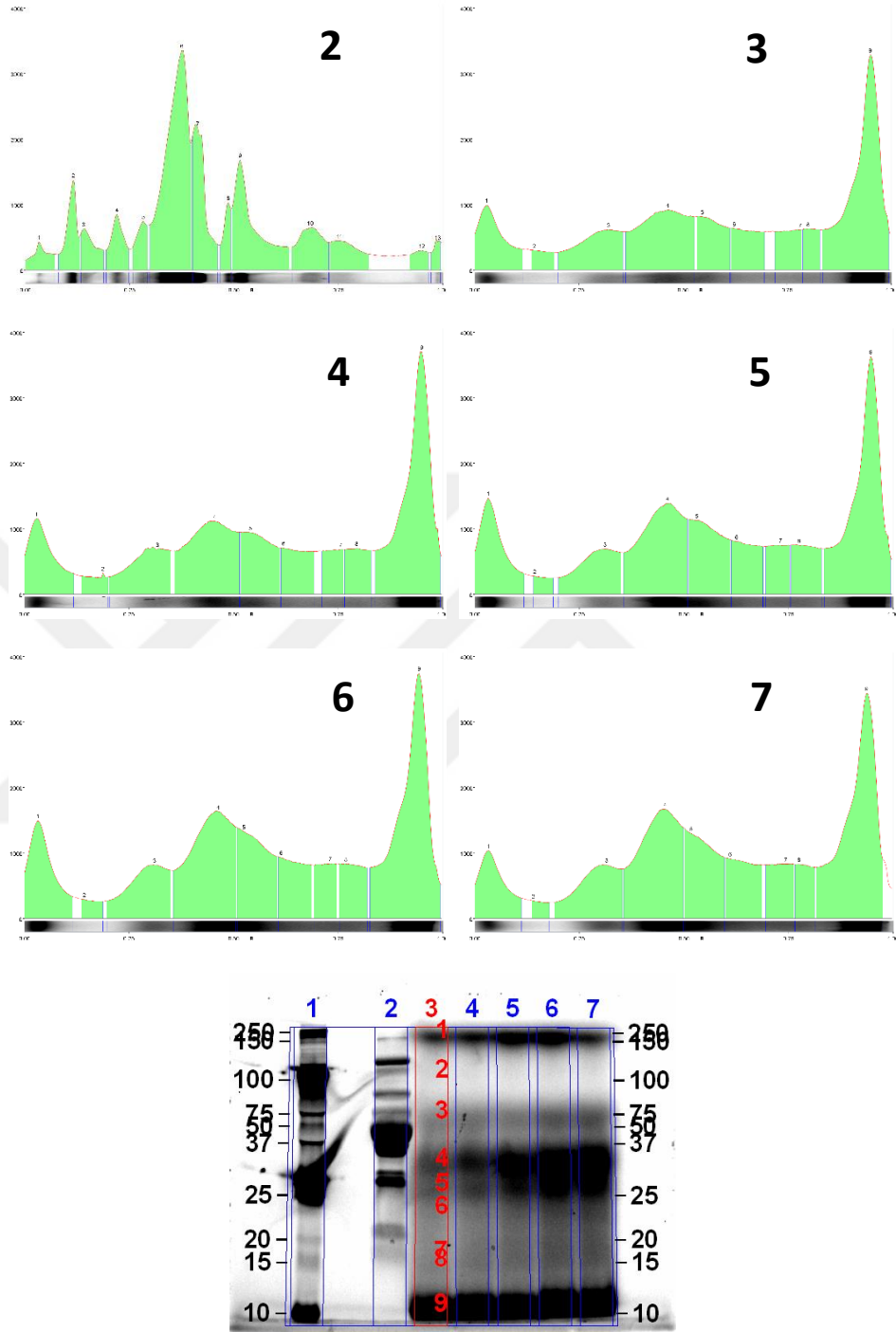
3.2.5. İstatistiki analizler

SPSS paket programında araştırmadan elde edilen veriler analiz edilerek gruplar arası farklılıklarda Duncan testi uygulandı ve p<0,05'de önem seviyeleri belirlendi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. SDS-PAGE Analizleri

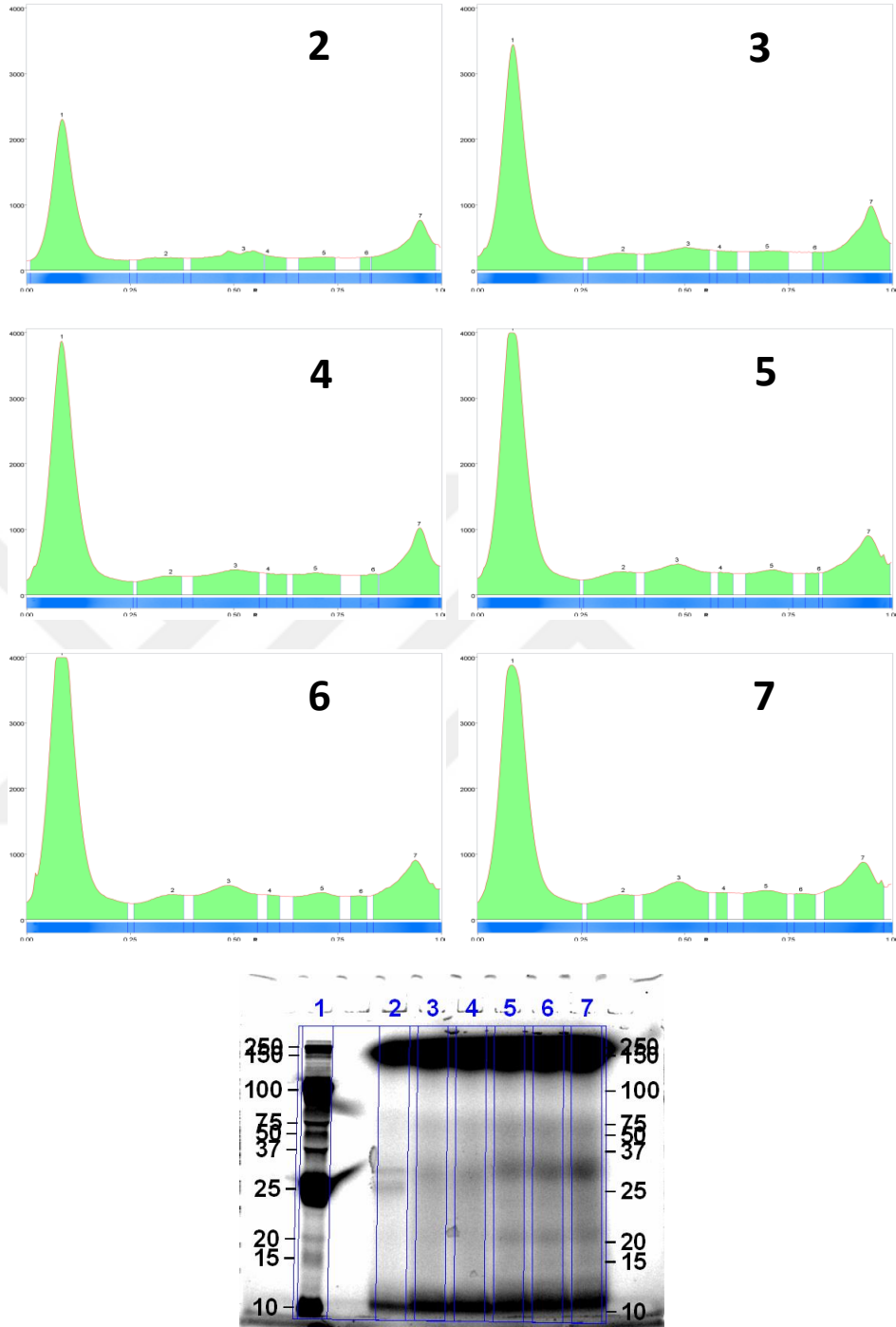
SDS-PAGE analizleri sonucunda kas ve i organlara ait toplam protein profilleri hacimsel olarak belirlenmiştir (Şekil 4.1-4.2). Kontrol (enzimatik işlem olmadan elde edilen kas ve iç organ protein ekstresi, 0. dk) ve zamansal uygulamalara ait protein elektroforetik profili izelge 4.1 ve 4.2'de verilmiŐtir. Kas ve i organlardan elde edilen hidrolizatlarda protein miktarının zamansal olarak istatistiki değişimi izelge 4.3'de gösterilmiŐtir.



Şekil 4.1. Balık kas hidrolizat dansitogramları ve elektroforetogram
 (1 Moleküler ağırlık markeri, 2- Kontrol (0 dk), 3- 30dk, 4-60 dk, 5- 90dk 6-120 dk 7-180 dk (BioRad ImageLab 4.01 jel analiz programı)

Kontrol ve deney hidrolizatları arasında farklı protein modelleri gözlenmiştir. Kas protein hidrolizatının SDS-PAGE analizi sonrası molekül ağırlığı 10 kDa ile 188 kDa arası değişen 13 major band tespit edilmiştir. İlk 30 dakikalık ısı uygulanması sonucu ise tespit edilebilen protein band sayısı 9'a düşmüştür. Yine, ilk 30 dakika içerisinde protein miktarı şiddetli bir biçimde azalırken ilerleyen sürelerde artmıştır. Bu artış 120. dakikaya kadar devam etmiş, bu noktadan sonra ise hafifçe azalmaya başlamıştır.





Şekil 4.2. Balık iç organların hidrolizat dansitogramları ve elektroforetogram (1 Moleküler ağırlık markeri, 2- Kontrol (0. dk), 3- 30dk, 4-60 dk, 5- 90dk 6-120 dk 7-180 dk (BioRad ImageLab 4.01 jel analiz programı))

İç organ hidrolizatlarının SDS-PAGE analizi sonrası molekül ağırlığı 10 kDa ile 190 kDa arası değişen 7 major band tespit edilmiştir. Hidrolizat hazırlanmasını takip eden ilk 30 dakikalık ısı uygulanması sonucu toplam protein miktarı artmaya başlamıştır ve 120. dakikaya kadar bu artış devam etmiştir. Bu noktadan sonra ise miktar sabit kalmıştır. Zamansal olarak her iki hidrolizatta da protein miktarlarında hacimsel olarak azalış ve artışlar olduğu belirlenmiştir.



Çizelge 4.1. Kas hidolizat proteinlerine ait volum ve % değerleri

| Kas | Hidrolizat Süresi | | | | | | | | | | | | |
|---------------|-------------------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|
| | 0 dk | | 30 dk | | 60 dk | | 90 dk | | 120 dk | | 180 dk | | |
| Band No. | Mol. Wt. (KDa) | Volume (Int) | Band % | Volume (Int) | Band % | Volume (Int) | Band % | Volume (Int) | Band % | Volume (Int) | Band % | Volume (Int) | Band % |
| 1 | 188 | 54075 | 1,28 | 200550 | 8,1 | 280945 | 9,2 | 415135 | 11,6 | 406770 | 9,9 | 263935 | 6,9 |
| 2 | 121 | 283255 | 6,69 | | | | | | | | | | |
| 3 | 111 | 105910 | 2,50 | 805 | 0,0 | 4130 | 0,1 | 420 | 0,0 | 315 | 0,0 | 385 | 0,0 |
| 4 | 89 | 153230 | 3,62 | | | | | | | | | | |
| 5 | 76 | 117985 | 2,78 | 111860 | 4,5 | 147945 | 4,9 | 164325 | 4,6 | 197505 | 4,8 | 205275 | 5,4 |
| 6 | 40 | 1964585 | 46,37 | | | | | | | | | | |
| 7 | 35 | 647955 | 15,29 | 403130 | 16,4 | 518630 | 17,0 | 767200 | 21,4 | 932820 | 22,7 | 934780 | 24,5 |
| 8 | 30 | 121940 | 2,88 | | | | | | | | | | |
| 9 | 28 | 548940 | 12,96 | 149170 | 6,1 | 212660 | 7,0 | 377335 | 10,5 | 420700 | 10,2 | 380345 | 10,0 |
| 10 | 21 | 147595 | 3,48 | 21560 | 0,9 | 19425 | 0,6 | 45675 | 1,3 | 64890 | 1,6 | 59920 | 1,6 |
| 11 | 16 | 45990 | 1,09 | 5705 | 0,2 | 11935 | 0,4 | 19495 | 0,5 | 17780 | 0,4 | 14000 | 0,4 |
| 12 | 10 | 12845 | 0,30 | 9695 | 0,4 | 19670 | 0,6 | 25550 | 0,7 | 24255 | 0,6 | 11130 | 0,3 |
| 13 | 10 | 32270 | 0,76 | 1558305 | 63,3 | 1833965 | 60,1 | 1772610 | 49,4 | 2043405 | 49,7 | 1941345 | 50,9 |
| TOTAL Protein | | 4236575 | 100 | 2460780 | 100 | 3049305 | 100 | 3587745 | 100 | 4108440 | 100 | 3811115 | 100 |
| Volume | | | | | | | | | | | | | |

Çizelge 4.2. İç organ hidrolizat proteinlerine ait volüm ve % değerleri

| İç organ | Hidrolizat Süresi | | | | | | | | | | | | |
|---------------|-------------------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|
| | 0 dk | | | 30 dk | | 60 dk | | 90 dk | | 120 dk | | 180 dk | |
| Band No. | Mol. Wt. (KDa) | Volume (Int) | Band % | Volume (Int) | Band % | Volume (Int) | Band % | Volume (Int) | Band % | Volume (Int) | Band % | Volume (Int) | Band % |
| 1 | 190 | 1961800 | 50,8 | 3012230 | 54,6 | 3476364 | 55,7 | 3929856 | 55,8 | 4194478 | 56,4 | 4063612 | 54,7 |
| 2 | 69 | 250138 | 6,5 | 329018 | 6,0 | 335750 | 5,4 | 461380 | 6,6 | 467262 | 6,3 | 449276 | 6,0 |
| 3 | 27 | 494802 | 12,8 | 573172 | 10,4 | 642804 | 10,3 | 755990 | 10,7 | 815150 | 11,0 | 900898 | 12,1 |
| 4 | 24 | 128112 | 3,3 | 171768 | 3,1 | 177752 | 2,8 | 152592 | 2,2 | 140726 | 1,9 | 143038 | 1,9 |
| 5 | 20 | 203456 | 5,3 | 322184 | 5,8 | 434316 | 7,0 | 479366 | 6,8 | 500956 | 6,7 | 527918 | 7,1 |
| 6 | 14 | 62186 | 1,6 | 86802 | 1,6 | 162350 | 2,6 | 138924 | 2,0 | 187884 | 2,5 | 258026 | 3,5 |
| 7 | 10 | 761838 | 19,7 | 1025882 | 18,6 | 1007964 | 16,2 | 1125706 | 16,0 | 1131486 | 15,2 | 1085620 | 14,6 |
| Total Protein | | 3862332 | 100 | 5521056 | 100 | 6237300 | 100 | 7043814 | 100 | 7437942 | 100 | 7428388 | 100 |
| Volum | | | | | | | | | | | | | |

Çizelge 4.3. Kas ve iç organ hidrolizatlarının zamansal olarak protein değişim oranı (Ortalama±standart sapma)

| Hidrolizat süresi (dk) | Hidrolizat Türü | |
|------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| | Kas* | İç organ* |
| 0 | 4236575,00±1000 ^a | 3862332,0000±1000 ^a |
| 30 | 2460780,00±1000 ^e | 5521056,0000±1000 ^d |
| 60 | 3049305,00±1000 ^d | 6237300,0000±1000 ^c |
| 90 | 3587745,00±1000 ^c | 7043814,0000±1000 ^b |
| 120 | 4108440,00±1000 ^a | 7437942,0000±1000 ^a |
| 180 | 3811115,00±1000 ^b | 7428388,0000±1000 ^a |

*p<0,05 a, b: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatitiki olarak fark yoktur.

İstatitiki olarak zamanın protein miktarında etkili olduğu belirlenmiştir. Kas dokusu için an yüksek protein miktarı 0 ve 120. dk 'larda kaydedilirken bu oran iç organlarda 120 ve 180. dakikalarda kaydedilmiştir. Genel olarak protein mektarında zamana bağlı bir artış gözlemlenmiştir (p<0,05).

4.2. Lipit Profili

Kas ve iç organlardaki lipid sınıflarının YPİTK sonuçlarına göre her iki dokuda da 7 sınıf lipid tespit edilmiştir. Bunlar kolesterol esteri (KE), triaçilgliserol (TAG), serbest yağ asidleri (SYA), kolesterol (KOL), monoaçilgliserol (MAG), diaçilgliserol (DAG) ile fosfolipidlerdir (FL)(Çizelge 4.4 ve 4.5).

Çizelge 4.4. Kas hidrolizat lipidlerine ait % değerleri (Ortalama±standart sapma)

| Kas Lipid sınıfı | Hidrolizat Süresi* | | | | | |
|------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| | 0 dk | 30 dk | 60 dk | 90 dk | 120 dk | 180 dk |
| KE* | 5,49±1,0 ^c | 11,95±1,0 ^{ab} | 12,40±1,0 ^a | 11,85±1,0 ^{ab} | 11,20±1,0 ^{ab} | 10,09±1,0 ^b |
| TAG* | 42,61±1,0 ^a | 22,33±1,0 ^e | 25,12±1,0 ^d | 30,11±1,0 ^c | 30,29±1,0 ^c | 32,37±1,0 ^b |
| SYA* | 14,10±1,0 ^{ab} | 15,67±1,0 ^a | 13,11±1,0 ^b | 12,24±1,0 ^{bc} | 12,75±1,0 ^b | 10,53±1,0 ^c |
| KOL* | 5,09±1,0 ^b | 12,30±1,0 ^a | 13,46±1,0 ^a | 12,42±1,0 ^a | 11,77±1,0 ^a | 12,11±1,0 ^a |
| MAG-DAG* | 16,74±1,0 ^b | 20,36±1,0 ^a | 19,32±1,0 ^a | 16,27±1,0 ^b | 15,49±1,0 ^b | 15,76±1,0 ^b |
| FL* | 15,98±1,0 ^c | 17,40±1,0 ^{abc} | 16,59±1,0 ^{bc} | 17,11±1,0 ^{bc} | 18,48±1,0 ^{ab} | 19,13±1,0 ^a |

*p<0,05 a, b: Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatitiki olarak fark yoktur.

Çizelge 4.5. İç organ hidrolizat lipidlerine ait % değerleri (Ortalama±standart sapma)

| İç organ Lipid sınıfı | Hidrolizat Süresi | | | | | |
|--------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| | 0 dk | 30 dk | 60 dk | 90 dk | 120 dk | 180 dk |
| KE* | 3,75±1,0 ^b | 6,77±1,0 ^a | 5,55±1,0 ^a | 6,00±1,0 ^a | 6,65±1,0 ^a | 6,49±1,0 ^a |
| TAG* | 39,24±1,0 ^a | 26,19±1,0 ^{bc} | 26,19±1,0 ^{bc} | 28,05±1,0 ^b | 26,28±1,0 ^{bc} | 25,51±1,0 ^c |
| SYA* | 20,17±1,0 ^c | 23,17±1,0 ^{ab} | 24,64±1,0 ^{ab} | 24,87±1,0 ^a | 23,64±1,0 ^{ab} | 22,78±1,0 ^b |
| KOL* | 7,91±1,0 ^b | 12,51±1,0 ^a | 12,33±1,0 ^a | 11,36±1,0 ^a | 12,53±1,0 ^a | 12,14±1,0 ^a |
| MAG-DAG* | 10,16±1,0 ^b | 12,17±1,0 ^{ab} | 12,45±1,0 ^{ab} | 11,10±1,0 ^{ab} | 11,28±1,0 ^{ab} | 12,39±1,0 ^a |
| FL ^{ÖD} | 18,77±1,0 ^a | 19,20±1,0 ^a | 18,83±1,0 ^a | 18,62±1,0 ^a | 19,62±1,0 ^a | 20,70±1,0 ^a |

*p<0,05, ÖD: Önemli değil. a, b: Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatitiki olarak fark yoktur.

İç organlarda fosfolipit içeriği bakımından zamansal olarak artış ve azalışlar görülmüş fakat bu farklılıklar istatitiki olarak önemli bulunmamıştır (p>0,05), buna karşın kas dokusunda tüm lipit gruplarında zamansal olarak belirlenen değişimler değerlendirildiğinde p<0,05 seviyesinde önemli bulunmuştur.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Su ürünleri yüksek orandaki doymamış yağ asitleri ve zengin protein içeriğiyle hassas gıda ürünleri arasındadır. İnsan diyetindeki proteinler, gastrointestinal sindirimden sonra vücudun fonksiyonu üzerinde olumlu etkisi olan, fizyolojik olarak aktif bileşenlerin kabul edilmiş bir kaynağıdır. Biyoaktif peptidlerin üretimi, çözücü ekstraksiyonu, enzimatik hidroliz ve gıda proteinlerinin mikrobiyal fermentasyonu ile sağlanabilir (Çolakoğlu ve Künili 2016; Anonim 2017).

Protein hidrolizatları kimyasal veya enzimatik olarak serbest amino asitler ve / veya peptidlere ayrılmış, daha büyük veya daha düşük hidroliz derecesine bağlı olarak geniş bir moleküler ağırlık aralığı sunabilen proteinler olarak tanımlanır. Proteinlerin enzimatik hidrolizi, hidrolitik işlemi teşvik etmek için eklenen endojen enzimler (balıkta bulunan proteazlar) veya ekzojen enzimler kullanılarak gerçekleştirilebilir (Alimentar 2013).

Hidrolizat, öğütülmüş balık eti ve su içerir. Endojen enzimler kullanıldığında, proses uzar ve protein hidrolizi daha uzun bir kontrol gerektirir, bu durum da üniform kalite standartlarına sahip ürünler elde edilmesini engeller. Ekzojen enzimler ile enzimatik hidroliz için bunlar, ürünün amaçlanan özelliklerine göre seçilebilir. Hidroliz, optimum koşullar altında gerçekleştirilmelidir, aşırı pH ve sıcaklık uygulamaları hidrolizatın besleyici kalitesini etkilemektedir (Alimentar 2013).

Yapılan çalışmada, toplam protein profiline ait bant yoğunluklarında azalmalara rastlanılmıştır. Ayrıca uygulama grupları arasında da bant yoğunluklarına göre fark belirlenmemiştir. Hidrolizat zamanlamamızda, 120. dk'dan sonra sürenin artması ve uygulamanın devam etmesi sonucunda bant yoğunluğunda azalmaların devam edeceği düşünülmektedir. Çalışma sonuçlarımızda toplam protein içerisindeki protein oranlarının fazla değişmemesi, ayrıca hemolizatlara uygulanan ısı derecesinin proteinleri denatüre edecek kadar fazla olmaması protein miktarındaki artışın örneklerin

ısu süresince su kaybına bağılı olduğunu düşündürmüştür (Harper 1959). Çalışma sonucunda elde ettiğimiz lipit peroksidasyonundaki artış, protein denatürasyonu ile toplam protein hacminde meydana gelen azalmayı destekler niteliktedir.

Elektroforez sonuçlarına göre bant yoğunluğunda meydana gelen artış, hidrolizat süresine bağılı olarak proteinlerin disulfid kovalent bağların kopmaması ve protein denatürasyonununun oluşmaması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Polipeptidlerin, hidrolitik proses öncesinde kasta bulunan majör proteinin hidrolizinden (yani miyozin ağır zinciri: 200 kDa, aktin: 45 kDa, vb.) oluşması beklenir. Düşük moleköl ağırlıklı bantlar çözünebilir fraksiyonda proteinlerin ilerleyici bir hidrolizinin olduğunu, polipeptidlerin moleköl ağırlığı ve fonksiyonel özellikleri arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Yüksek hidrolizasyon derecesi daha düşük moleköl ağırlıklı polipeptitleri üretir ve bu yüzden çözünürlükleride artar (Pacheco-Aguilar *et al.* 2008).

Çalışmamızda olduğu gibi hidrolizasyon süresinin proteinleri peptidlere ve amino asitlere parçalamada etkili olduğu Silva *et al.* (2014) tarafından da bildirilmiştir. Bhaskar *et al.* (2008), balık proteini hidrolizatlarının besin değeri yüksek diyet proteinleri olmasında, serbest amino asitlerin mümkün olduğunca moleköl ağırlığı düşük peptitler açısından zengin olmasından kaynaklandığını bildirmiştir.

Yüksek kDa aralığındaki bantlar başlangıç materyalinden daha büyük proteinlerin veya hammadde içinde bulunan, enzim tarafından tamamen hidrolize edilmemiş proteinlerin bir sonucu olabilir (Souissi *et al.* 2007). Yine yüksek ağırlıklı bantların görülmemesi de protein kaybına işaret edebilir (Ünlüsayın vd. 2009).

Proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için enzimatik ve kimyasal değışiklikler yaygın olarak kullanılmıştır. Enzim hidrolizi ile üretilen peptitler, orijinal proteinlerinkinden daha küçük moleköl boyutlarına ve daha az sekonder yapılarla sahiptir (Jeon *et al.* 1999).

Protein hidrolizatların çoğu özelliği hidroliz koşullarına ve başlangıç materyallerine bağlıdır. Protein hidrolizatları, özellikle serbest amino asitler ve di- ve tri-peptidlerin olduğu düşük molekül ağırlıklı peptidlerden zengindir (Bhaskar *et al.* 2007).

Hidrolize proteinin moleküler ağırlığı, fonksiyonel malzemeler olarak kullanılmak üzere istenen fonksiyonel özelliklere sahip protein hidrolizatların üretilmesinde en önemli faktörlerden biridir. Bu nedenle, uygun bir moleküler boyuta sahip olan hidrolizatı elde etmek için sınırlı enzimik hidroliz gerçekleştirilmektedir. Bununla birlikte, yetersiz bir hidrolizasyon süresi sınırlı miktarda enzimatik hidrolize neden olmakla birlikte balıkta bulunan tüm proteinlerin geri kazanımını da neredeyse imkansız kılmaktadır. Buna göre, hem istenen bir moleküler boyuta hem de fonksiyonel bir özelliğe sahip bir hidrolizat veya peptit fraksiyonu elde etmek için farklı yöntemler kullanılmaktadır (Jeon *et al.* 1999).

Balıkların iç organları zengin enzim kaynaklarına sahiptir. Bu enzimlerin çoğu nispeten düşük konsantrasyonlarda yüksek katalitik etkinlik göstermektedir. Spesifik özellikler dikkate alınarak balık işleme yan ürünleri günümüzde enzim ekstraksiyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu proteolitik enzimler arasında pepsin, tripsin, kimotripsin ve deniz balıkları organlarından ekstrakte edilen kollajenazlar dikkat çeken ticari proteolitik enzimlerdir (Kim and Mendis 2006). Protein hidrolizatının amino asit kompozisyonu oldukça higroskopiktir (Bhaskar *et al.* 2007; Aylangan ve Öztan 2008; Ayana ve Turhan 2010).

Su ürünleri kaliteli protein ve yağ asidi içeriği ile insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Kolesterol ısıya dayanıklı bir moleküldür (erime noktası 148°C). Yine, kolesterolü parçalayan bir enzim sistemi de yoktur. Kolesterolün vücuttan uzaklaştırılması anca yapısına girdiği safranin gastrointestinal sistem vasıtasıyla atılması şeklinde olabilmektedir (Harper 1959). Bu nedenle biyolojik sistemlerde kolesterol düzeyi aşırı stres gibi uç koşullar dışında sabit kabul edilmektedir. Kolesterol esteri de kolesterol gibi oldukça dayanıklı bir lipid sınıfıdır. Bunun da sindirimi ancak pankreastan salınan kolesterol esteraz enziminin aktivitesi ile sağlanabilmektedir

(Harper 1959). YPTİK de gözlemlediğimiz üzere, kas ve iç organların toplam yağ içeriklerindeki hem kolesterol hem de kolesterol ester oranları incelendiğinde her ikisinin de toplam lipid sınıfları içindeki oranının hidrolizatlara uygulanan ilk 30 dk'lık ısı süresi boyunca 2 kata kadar yükseldiği görülmüştür. Yine toplam yağ içerisindeki TAG oranının ilk 30 dk içerisinde dramatik bir biçimde azaldığı, diğer lipid sınıflarının oranlarının ise bu süre zarfında sabit kaldığı yâda hafif arttığı görülmüştür. Col ve ColE deki artma ile TAG' daki azalma oranları dikkate alındığında TAG'daki aşırı azalmanın diğer lipid sınıflarında relatif bir artışa neden olduğu aslında bu lipid sınıflarında ısı süresi boyunca az da olsa bir azalma olduğu gözlemlenmiştir. Artan ısı süresi boyunca değişim iç organlarda nispeten sabit kalmıştır. Fakat kas dokusunda hidrolizat süresinin 90. dakikasından sonra hem FFA hem de MAG-DAG yıkılmaya başlamış, toplam yağ içeriğindeki TAG oranı relatif olarak yükselmiş fakat diğer lipid sınıflarının oranları sabit kalmıştır.

Günümüzde sürdürülebilir beslenme için üretim ve verimliliğin artırılması yanında, hammaddenin etkili kullanımı da önemli bir noktadır. Bu kapsamda değerlendirilmeyen balık atıklarının yüksek değerli tüketilebilir ürünlere dönüştürülmesi ve gıdalarda besin değeri daha yüksek uygulamaların olması önem taşımaktadır. Düşük ticari değere sahip işleme atıkların yüksek derecede işlevsel hidrolizatların üretimi için ticari enzimlerle muamele edilmesi uygulanabilir bir teknoloji olabilir.

Yapılan bu çalışma ile

1. Hidrolizat süresinin protein profilinde etkili olduğu elde edilen hidrolizatların iyi birer amino asit kaynağı olabileceği ve insan beslenmesinde kullanılabileceği,
2. Su ürünleri atıklarının ekonomik değeri yüksek ürünlere dönüştürülerek ülke ekonomisi için alternatif ürünler olabileceği,
3. "Atıkların", diğer ürünlerin yapımında hammadde olarak kullanılabileceği; bu durumda çevresel kaygıları azaltacağı,
4. Su ürünleri yetiştiriciliği yapan işletme ve çiftçilere atıkların etkin kullanımı konusunda bilinçlendirme programlarının uygulanması,

5. Bu atıkların yönetimi ve sürdürülebilirliği için atık yönetimine yönelik politikaların işletmeler ve ilgili birimlerce geliştirilmesi ve uygulanması gerekliliği,
6. Devlet politikalarıyla sürdürülebilir kalkınmanın desteklenerek kaynakların korunumu ve etkin kullanımının temel alınacağı AR-GE imkanlarının oluşturulması,
7. Daha iyi sonuçlara ulaşmak adına özellikle ülkemiz için çok yönlü ve farklı teknik-teknoloji ve hammaddelerin kullanıldığı daha fazla çalışmaya gerek olduğu sonuçlarına varılmıştır.



KAYNAKLAR

- Ahn, C.B., Cho, Y. S., and Je, J.Y., 2015. Purification and anti-inflammatory action of tripeptide from salmon pectoral fin byproduct protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 168 , 151–156.
- Aissaoui, N., Chobert, J.M., Haertlé, T., Marzouki, M.N., and Abidi, F., 2017. Purification and Biochemical Characterization of a Neutral Serine Protease from *Trichoderma harzianum*. Use in Antibacterial Peptide Production from a Fish By-Product Hydrolysate. *Appl Biochem Biotechnol*, 182, 831–845.
- Alemán, A., Giménez, B., Montero, P., and Gómez-Guillén, M. C., 2011. Antioxidant activity of several marine skin gelatins. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 407–413.
- Alimentar, E., 2013. Production of fish protein hydrolysates by a marine proteolytic strain. Master Thesis, Instituto Português do Mar e da Atmosfera – Divisão de Aquacultura e Valorização.
- Anonim 2017. <http://www.sudayasamdergisi.com/2017/07/14/protein-hidrolizat-eldes/22.08.2017>
- Anonim 2017a. <http://cstci.ir/Files/FishByproductUtilization.pdf> (21.08.2017)
- Archer, M., Watson, R., and Denton, J. W., 2001. Fish Waste Production in the United Kingdom - The Quantities Produced and Opportunities for Better Utilisation. The Sea Fish Industry Authority, Seafish Technology, Seafish Report Number SR537, 1-57.
- Arvanitoyannis, I. S., and Kassaveti, A., 2008. Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 726–745.
- Ası, T., 1999. Tablolarla Biyokimya 2. <http://veterinary.ankara.edu.tr/~fidanci> yayın, 234 s, İstanbul.
- Ateş, M., Ögüt, S., Şen, İ., ve Gümüş, B.A.2008. *Oncorhynchus mykiss* ile *Salmo salar* balık türlerinin SDS-PAGE elektroforezi yöntemi ile protein bandlarının karşılaştırılması. 1. Ulusal Alabalık Sempozyumu 14-16 Ekim 2008, Isparta.
- Ayana, B. ve Turhan, K. N. 2010. Gıda ambalajlamasında antimikrobiyal madde içeren yenilebilir filmler/ kaplamalar ve uygulamaları. 35 (2): 151-158.
- Aylangan, A. ve Öztan, A. 2008. Hayvansal gıda sanayisi yan ürünleri kullanılarak protein hidrolizatları üretimi. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs, Erzurum 497-500.
- Baltacı, Y., 2009. Diyete antepfıstığı eklenmesinin lipit parametreleri, oksidan-antioksidan Sistem ve endotel fonksiyonları üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Bemben M.G., and Lamont, H.S., 2005. Creatine supplementation and exercise performance. *Sports Med* ., 35 (2), 107-125.
- Benhabiles, M. S., Abdi, N., Drouiche, N., Lounici, H., Pauss, A., Goosen, M. F. A., and Mameri, N., 2012. Fish protein hydrolysate production from sardine solid waste by crude pepsin enzymatic hydrolysis in a bioreactor coupled to an ultrafiltration unit. *Materials Science and Engineering*, 32, 922–928.

- Bernardi, D. M., Daniel de Paris, L., Dieterich, F., Dummond e Silva, F.G., Boscolo, R. W., Sary, C., Signor, A., Bertol, T. M., and Sgarbieri, V.C., 2016. Production of hydrolysate from processed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) residues and assessment of its antioxidant activity. *Food Sci. Technol*, 36(4), 709-716.
- Bhaskar, N., and Mahendrakar, N. S., 2008. Protein hydrolysate from visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*): Optimization of hydrolysis conditions for a commercial neutral protease. *Bioresource Technology*, 99, 4105–4111.
- Bhaskar, N., Benila, T., Radha, C., and Lalitha, R.G., 2008. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresour. Technol.* 99, 335–343.
- Bhaskar, N., Modi, V. K., Govindaraju, K., Radha, C., and Lalitha, R. G., 2007. Utilization of meat industry by products: protein hydrolysate from sheep visceral mass. *Bioresource Technology*, 98(2), 388-394.
- Blendford D. E., 1994. Protein hydrolysates: functionalities and uses in nutritional products. *International Foods and Ingredients*, 3, 45-49.
- Chalamaiah, M., Kumar, B. D., Hemalatha, R., and Jyothirmayi, T., 2012. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications. *Food Chemistry*, 135, 3020–3038.
- Chalamaiah, M., Narsing Rao, G., Rao, D. G., and Jyothirmayi, T., 2010. Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. *Food Chemistry*, 120, 652–657.
- Charoenphun, N., Cheirsilp, B., Sirinupong, N., and Youravong, W., 2013. Calcium-binding peptides derived from tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein hydrolysate. *European Food Research and Technology*, 236, 57-63.
- Choe, I., Jeon, H.J., Eom, S.H., Han, Y., Kim, Y.S., and Lee, S.H., 2016. The anti-inflammatory effect of a glycosylation product derived from the high hydrostatic pressure enzymatic hydrolysate of a flatfish byproduct. *Food Funct.*, 7, 2557–2565.
- Choi, J.S., Moon, H.E., Roh, M.K., Ha, Y.M., Lee, B.B., Cho, K.K., and Choi, I.S. 2016. Physiological properties of *Scomber japonicus* meat hydrolysate prepared by subcritical water hydrolysis. *J Environ Biol.*, 37(1),57-63.
- Çağlak, E., 2009, Su ürünlerinde yan ürünler & by- products. XV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 01- 04 Temmuz 2009, Rize
- Çağlak, E., ve Çağlak, S. 2011. Su Ürünlerinde Yan Ürünler. Yunus Araştırma Bülteni. 2,1-6.
- Çaklı, Ş., 2008. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi-2. Ege Üniversitesi Yayınları Su Ürünleri Fakültesi Yayın No: 77, 513 s, İzmir.
- Çetiner, Ç. 2008. Kalamar (*Loligo pealei* Lesueur, 1821) işleme atıklarından elde edilen hidrolizatın antioksidan aktivitesinin hesaplanması. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- Çoban, Ö.E., ve Keleştemur, G.T., 2010. Farklı oranlardaki sentetik β -karotenin alabalık (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) filetolarında kas karotenoid stabilitesi ve lipid peroksidasyon düzeyine etkileri. *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.*, 25 (1), 17 – 21.
- Çolakoğlu, F.A. ve Künili, İ.E., 2016. Su ürünleri atıkları ve değerlendirme olanakları, Dünya Gıda. Erişim tarihi:21.08.2017 (<http://www.dunyagida.com.tr/haber/su-urunleri-dnadndnsadnsdldsasdsadsdsdsd/5242>).

- Doğan, G., ve Erdem, M., 2008. Balıklarda protein metabolizması. *Journal of Fisheries Sciences*, 2(1), 30-40.
- Ekici, K., ve Akyüz, N., 2003. Farklı hayvan türlerine ait çiğ etlerin sds-page yöntemiyle belirlenmesi üzerine bir araştırma. *YYÜ Vet Fak Derg*, 14 (2),78-82.
- Elavarasan, K., Naveen Kumar, V., and Shamasundar, B.A., 2014. Antioxidant and functional properties of fish protein hydrolysates from fresh water carp (*Catla catla*) as influenced by the nature of enzyme. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38, 1207–1214.
- FAO, Food and Agriculture Organization 2016. FISH TO 2030 Prospects for fisheries and aquaculture. <http://www.fao.org/docrep/019/i3640e/i3640e.pdf> (17.05.2017)
- Ferraro, V., Cruz, I. B., Jorge, R. F., Malcata, F. X., Pintado, M. E., and Castro, P. M. L., 2010. Valorisation of natural extracts from marine source focused on marine by-products: A review. *Food Research International*, 43, 2221–2233.
- Foh, M. B. K., Kamara, M. T., Amadou, I., Foh, B. M., and Wenshui, X., 2010. Chemical and physicochemical properties of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish protein hydrolysates and concentrate. *International Journal of Biological Chemistry*, 5, 21–36.
- García-Moreno, P. J., Batista, I., Pires, C., Bandarra, N. M., Espejo-Carpio, F. J., Guadix, A., and Guadix, E. M., 2014. Antioxidant activity of protein hydrolysates obtained from discarded Mediterranean fish species. *Food Research International*, 65, 469–476.
- Gaull, G.E., 1986. Taurine as a conditionally essential nutrient in man. *Journal of the American College of Nutrition*, 5, 121–125.
- Geirsdottir, M., Sigurgisladdottir, S., Hamaguchi, P. Y., Thorkelsson, G., Johannsson, R., Kristinsson, H. G., and Kristjansson, M. M., 2011. Enzymatic hydrolysis of Blue Whiting (*Micromesistius poutassou*); Functional and bioactive properties. *Journal of Food Science*, 76, 14–20.
- Ghaly, A. E., Ramakrishnan, V. V., Brooks, M. S., Budge, S. M., and Dave, D., 2013. Fish Processing Wastes as a Potential Source of Proteins, Amino Acids and Oils: A Critical Review. *Microbial & Biochemical Technology*, 5, 107-129.
- GTHB, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 2017. Su ürünleri istatistikleri. <https://www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BSGM.pdf> (12.06.2017)
- Gupta, R. K., Chang, A. C., Griffin, P., Rivera, R., Guo, Y. Y., and Siber, G. R., 1997. Determination of protein loading in biodegradable polymer microspheres containing tetanus toxoid. *Vaccine*, 15, 672-678.
- Halim, N. R. A., Yusof, H. M., and Sarbon, N.M., 2016. Functional and bioactive properties of fish protein hydrolysates and peptides: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 51, 24-33.
- Hara, A., and Radin, N.S., 1978. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical Biochemistry*, 90, 420–426.
- Harper, A.E., 1959. Amino acid balance and imbalance. 1. Dietary level of protein and amino acid imbalance. *J. Nutr.* 68, 405–418
- He, S., Franco, C., and Zhang, W., 2013. Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). *Food Research International*, 50(1), 289-297.
- Hema, G. S., Joshy, C. G., Shyni, K., Chatterjee, N. S., Ninan, G., and Mathew, S. 2017. Optimization of process parameters for the production of collagen

- peptides from fish skin (*Epinephelus malabaricus*) using response surface methodology and its characterization. *Journal of food science and technology*, 54(2), 488-496.
- Hsu, K. C., 2010. Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product. *Food Chemistry*, 122, 42–48.
- Ibarra, J. P., Teixeira, A., Simpson, R., Valencia, P., Pinto, M., and Almonacid, S., 2013. Addition of fish protein hydrolysate for enhanced water retention in Sous Vide processing of salmon. *Journal of Food Processing and Technology*, 4(7), 1-7.
- Ingole, V.H., Hany Hussein, K., Kashale, A.A., Ghule, K., Vuherer, T., Kokol, V., Chang, J.Y., Ling, Y.C., Vinchurkar, A., Dhakal, H.N., and Ghule, A.V., 2017. Ultrasound-assisted green economic synthesis of hydroxyapatite nanoparticles using eggshell biowaste and study of mechanical and biological properties for orthopedic applications. *J Biomed Mater Res A*, doi: 10.1002/jbm.a.36146.
- Je, J. Y., Qian, Z. J., Byun, H. G., and Kim, S. K., 2007. Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzymatic hydrolysis. *Process Biochemistry*, 42, 840–846.
- Jeon, Y. J., Byun, H. G., and Kim, S. K., 1999. Improvement of functional properties of cod frame protein hydrolysates using ultrafiltration membranes. *Process Biochemistry*, 35(5), 471-478.
- Jiang, H., Tong, T., Sun, J., Xu, Y., Zhao, Z., and Liao, D., 2014. Purification and characterization of antioxidative peptides from round scad (*Decapterus maruadsi*) muscle protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 154, 158-163.
- Jónsson, A., and Viðarsson, J. R., 2016. By-products from whitefish processing. *Matis - Food Research, Innovation & Safety*, 1-36.
- Kaynar, Ö., İleritürk, M., ve Hayırlı, A., 2013. Evaluation of Computational modifications in HTLC with gel analysis software and flatbed scanner for lipid separation. *Journal of Planar Chromatography-Modern TLC* 26(3), 202–208.
- Kılınç, B. 2007. Balık Atıklarının Değerlendirilmesi. *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences Cilt/Volume 24, Sayı/Issue (3-4): 315–319.*
- Kim, S.K., and Venkatesan, J., 2014. Introduction to Seafood Processing By-products. *Seafood Processing By-Products: Trends and Applications*. Ed: Kim, Se-Kwon. Springer Science+Business Media New York, 1-2.
- Kim, S.K., and Mendis, E., 2006. Bioactive compounds from marine processing byproducts—a review. *Food Research International*, 39(4), 383-393.
- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
- Lanari, D. and Franci, C., 1998. Biogas production from solid wastes removed from fish farm effluents. *Aquatic Living Resources*, 11, 289–295.
- Larsen, R., Stormo, S. K., Dragnes, B.T., and Elvevoll, E.O., 2007. Losses of taurine, creatine, glycine and alanine from cod (*Gadus morhua* L.) fillet during processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 396–402.
- Lee, S. H., Qian, Z. J., and Kim, S. K., 2010. A novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from tuna frame protein hydrolysate and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Food Chemistry*, 118, 96–102.

- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J., 1951 Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Morales-Medina, R., Tamm, F., Guadix, A. M., Guadix, E. M., and Drusch, S., 2016. Functional and antioxidant properties of hydrolysates of sardine (*S. pilchardus*) and horse mackerel (*T. mediterraneus*) for the microencapsulation of fish oil by spray-drying. *Food Chemistry*, 194, 1208-1216.
- Muzaifa, M., Safriani, N., and Zakaria, F., 2012. Production of protein hydrolysates from fish byproduct prepared by enzymatic hydrolysis. *AAFL Bioflux*, 5(1), 36-39.
- Nazeer, R. A., Deeptha, R., Jaiganesh, R., Sampathkumar, N. S., and Naqash, S. Y. 2011. Radical scavenging activity of Seela (*Sphyraena barracuda*) and Ribbon fish (*Lepturacanthus savala*) backbone protein hydrolysates. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 17, 209–216.
- O’Flaherty, L., Stapleton, P.P., Redmond, H.P., and Bouchier Hayes, D.J., 1997. Intestinal taurine transport: a review. *European Journal of Clinical Investigation*, 27, 873–880.
- Ojha, K.S., Alvarez, C., Kumar, P., O'Donnell, C.P., and Tiwari, B.K., 2016. Effect of enzymatic hydrolysis on the production of free amino acids from boarfish (*Capros aper*) using second order polynomial regression models. *LWT - Food Science and Technology*, 68 , 470-476.
- Pacheco-Aguilar, R., Mazorra-Manzano, M. A., and Ramírez-Suárez, J. C., 2008. Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting (*Merluccius productus*) muscle produced by a commercial protease. *Food Chemistry*, 109(4), 782-789.
- Palmeira, K. R., Mársico, E. T., Monteiro, M. L. G., Lemos, M., and Junior, C. A. C., 2016. Ready-to-eat products elaborated with mechanically separated fish meat from waste processing: challenges and chemical quality. *CyTA - Journal of Food*, 14 (2), 227-238.
- Parlak, V., 2016. Gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) akut ve kronik, alfa sipermetrin uygulamalarının hematoksik, hepatoksik ve nefrotoksik etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Penven, A., Galvez, R.P., and Berge, J.P., 2013. By- products from fish processing: focus on french industry. Utilization of fish waste. Ed: Galvez, R.P., and Berge, J.P., Crc Press, London, New York. 1-26.
- Pereira, F.F., Parisa, E.C., Bresolina, J.D., Foschinia, M.M., Ferreiraa, M.D., and Corrêaa, D.S., 2017. Investigation of nanotoxicological effects of nanostructured hydroxyapatite to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144, 138-147.
- Pires, C., Clemente, T., and Batista, I., 2012. Functional and antioxidative properties of protein hydrolysates from Cape hake by-products prepared by three different methodologies. *J Sci Food Agric*, 93, 771–780
- Rajapakse, N., Jung, W. K., Mendis, E., Moon, S. H., and Kim, S. K., 2005. A novel anticoagulant purified from fish protein hydrolysate inhibits factor XIIa and platelet aggregation. *Life Sciences*, 76, 2607–2619.

- Roslan, J., Yunos, K. F. M., Abdullah, N., and Kamal, S. M. M., 2014. Characterization of Fish Protein Hydrolysate from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by-Product. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 312 – 319.
- Sathivel, S., Prinyawiwatkul, W., King, J.M., Grimm, C.C., and Lloyd, S., 2003. Oil production from catfish viscera. *JAOCs*, 80(4),377-382.
- Schaffer, S., Takahashi, K., and Azuma, J., 2000. Role of osmoregulation in the actions of taurine. *Amino Acids*, 19, 527–546.
- Schuller-Levis, G.B., and Park, E., 2003. Taurine: new implications for an old amino acid. *FEMS Microbiology Letters*, 226, 195–202.
- Shen, Q., Guo, R., Dai, Z., and Zhang, Y., 2012. Investigation of enzymatic hydrolysis conditions on the properties of protein hydrolysate from fish muscle (*Collichthys niveatus*) and evaluation of its functional properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 5192-5198.
- Silva, J. F. X., Ribeiro, K., Silva, J. F., Cahú, T. B., and Bezerra, R. S., 2014, Utilization of tilapia processing waste for the production of fish protein hydrolysate. *Animal Feed Science and Technology*, 196, 96–106.
- Sinan, O., Yıldırım, O., Kocakulah, M.B., ve Aydın, H., 2006. Fen bilgisi öğretmen adaylarının proteinler, enzimler ve protein sentezi ile ilgili kavram yanılgıları. *Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 26 (1), 1-16.
- Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y., and Nasri, M., 2007. Biochemical and functional properties of Sardinelle (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. *Food Technology and Biotechnology*, 45, 187–194.
- Söbeli, C., ve Kayaardı, S., 2014. Et kalitesini belirlemede yeni teknikler. *Gıda*, 39 (4), 251-258.
- Spitze, A. R., Wong, D.L., Rogers, Q.R., and Fascetti, A. J., 2003. Taurine concentrations in animal feed ingredients; cooking influences taurine content. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 87, 251–262.
- Teixeira, B., Pires, C., Nunes, M.L., and Batista, I., 2016. Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from Cape hake by-products. *International Journal of Food Science and Technology*, 51, 2528–2536.
- Tropea, A., Gervasi, T., Melito, M.R., Lo Curto, A., and Lo Curto, R., 2013. Does the light influence astaxanthin production in *Xanthophyllomyces dendrorhous*? *Nat Prod Res.*, 27(7),647-53.
- Türkmen, Z., Mercan, S., ve Cengiz, S., 2008. Eroin, morfin, kokain ve mdma'nın yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi ile eşzamanlı tayini. *Adli Tıp Dergisi*, 22(1), 13-24.
- Ünlüsayın, M., Erdilal, R., ve Çağatay, T., 2009a. Balık proteinlerinin saflaştırılmasında kullanılan son yöntemler. *Journal of Fisheries Sciences*, 3(4), 298-309.
- Ünlüsayın, M., Gümüş, B., Erdilal, R., and Gülyavuz, H., 2009. The influence of different salting processes on protein loss of *Sepia officinalis*. 3rd Trans-Atlantic Fisheries Technology Conference. 15-18 September 2009, Copenhagen.
- Venkatesan, J., and Kim, S. K., 2014. Nano-hydroxyapatite composite biomaterials for bone tissue engineering—a review. *Journal of biomedical nanotechnology*, 10(10), 3124-3140.
- Viana do Nascimento, V. L., Bermúdez, V. M. S., Lima de Oliveira, A.L., Klenberg, M.N., Ribeiro, R. T. M., Abreu, R.F.A., and Carioca, J.O.B., 2015.

- Characterization of a hydrolyzed oil obtained from fish waste for nutraceutical application. *Food Science and Technology*, 35(2),321-325.
- Witono Y., Taruna, I., Windrati, W.S., Azkiyah, L., and Sari, N.T., 2016. 'Wader' (*Rasbora jacobsoni*) Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 9 , 482 – 492.
- Wu, R., Chen, L., Liu, D., Huang, J., Zhang, J., Xiao, X., Lei, M., Chen, Y., and He, H., 2017. Preparation of Antioxidant Peptides from Salmon Byproducts with Bacterial Extracellular Proteases. *Mar. Drugs*, 15 (4), doi:10.3390/md15010004.
- Yağcı, S., Altan, A., Göğüş, F., ve Maskan, M., 2006. Gıda atıklarının alternatif kullanım alanları. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- Yılmaz, İ., 2010. Karotenoidler. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 17 (3), 223-231.
- Yin, H., Pu, J., Wan, Y., Xiang, B., Bechtel, P. J., and Sathivel, S., 2010. Rheological and functional properties of catfish skin protein hydrolysates. *Journal of Food Science*, 75(1), 11–17.
- Yumuk, H., 2014. Prebiyotik ile beslenmiş kahverengialabalık (*Salmo trutta fario*) filetolarının raf ömrü üzerine bitkisel yağlıkitosan uygulamasının etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Erzurum'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurumda tamamladı. 2008 yılında girdiği Sinop Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü'nden 2012 yılında mezun oldu. 2015 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.

