

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**ÇİPURA İŞLEME ATIKLARININ YAN ÜRÜN  
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Özlem Yeşim AKAGÜNDÜZ**

**Tez danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Can ALTINELATAMAN**

**Su Ürünleri Avlama İşleme Anabilim Dalı**

**Bilimsel kodu: 504.07.01**

**Sunuş tarihi: 14.09.10**

**Bornova- İZMİR**

**2010**

Özlem Yeşim Akagündüz tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “ Çipura işleme atıklarının yan ürün olarak değerlendirilmesi ” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 14.09.10 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri üyeleri:**

**İmza**

**Jüri Başkanı : Yrd. Doç. Dr. Can ALTINELATAMAN**

**Rapotör Üye : Doç. Dr. Ufuk ÇELİK**

**Üye : Doç. Dr. Cüneyt SÜZER**



**ÖZET****ÇİPURA İŞLEME ATIKLARININ YAN ÜRÜN OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

AKAGÜNDÜZ, Özlem Yeşim

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Avlama İşleme Anabilim Dalı  
Tez Yöneticisi: Yrd. Doç. Dr. Can ALTINELATAMAN  
Ağustos 2010, 41 Sayfa

Bu çalışmada çipura işleme atıklarının yan ürün olarak değerlendirilmesi ile jelatin ve yenilebilir film üretimi amaçlanmıştır. Hammadde olarak çipura iskelet ve yüzgeçleri ile çipura pulları kullanılmıştır. Çipura iskelet ve yüzgeçlerinin ön işlemleri için iki farklı yöntem kullanılmıştır. HCl çözeltisi ve Alkalaz çözeltisi ile iskelet ve yüzgeçlerin içerdikleri kas proteinlerinin uzaklaştırılması hedeflenmiştir, bunun yanı sıra çipura pullarının içerdiği istenmeyen maddeleri uzaklaştırmak amacıyla NaCl ve NaOH çözeltileri kullanılmıştır. Böylelikle üç farklı jelatin elde edilmiş ve bu jelatinler jel dayanımı, nem içeriği ve antioksidan ölçümleri ile karakterize edilmiştir.

Yenilebilir film üretimi için en iyi özellikleri gösteren jelatin seçilip iki farklı film hazırlanmıştır. Filmin antioksidan aktivitesinin artırılması amacıyla diğer filme karotenoid konsantresi eklenerek hazırlanmıştır ve her iki filmde, film kalınlığı, şeffaflık, renk ölçümleri, mekanik özellikleri ( delme testi, gerilme testi), antioksidan analizleri ( ABTS, FRAP), su buharı geçirgenliği, suda çözünürlük ve su aktivitesi ölçülmesi suretiyle karakterize edilmiştir. Sonuç olarak çipura pullarından elde edilen jelatin gösterdiği yüksek jel dayanımı, şeffaflığı, renksiz, kokusuz olması ve yüksek verim oranı nedeni ile yenilebilir film üretiminde kullanılmıştır. Filmler kıyaslandığında karotenoid konsantresi içeren filmin antioksidan aktivitesi ve suda çözünürlük değeri daha yüksek bulunmuştur.

**Anahtar sözcükler:** Çipura işleme atıkları, balık jelatini, yenilebilir film



**ABSTRACT****EVALUATION OF GILTHEAD SEA BREAM PROCESSING WASTES AS BY-PRODUCT**

AKAGÜNDÜZ, Özlem Yeşim

MSc in, Fisheries of Fishing and Processing Technology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Can ALTINELATAMAN

August, 2010, 41 pages

In this study, as a by-product of gilthead sea bream processing wastes assesment by gelatin and edible film production was aimed. As raw materials gilthead sea bream bones and fins with gilthead sea bream scales were used. For pretreatment of gilthead sea bream bones and fins two different method were used. The removal of bones and fins muscle protein they contain is aimed with HCl solution and Alcalase solution, besides this in order to remove of undesirable substances contained in gilthead sea bream scales NaCl and NaOH solutions were used. Thus, three different gelatins were obtained and these gelatins were characterised by gel strength, moisture content and antioxidant measurements.

For edible film production by choosing gelatin that has the best properties, two different films were prepared. One of them prepared with gelatin from scales, the other one with the same gelatin and carotenoid concentrate. In order to increase of the antioxidant activity of film the other film was used by adding carotenoid consantrate and both films were characterised by measuring film thickness, color measuring, opacity, mechanical properties (puncture test and tensile test), antioxidant measurements (ABTS, FRAP), water vapor permeability, water solubility, water activity. As a result, gelatin that was used from gilthead sea bream scales showed high gel strength, transparency, colorless, odorless and high rate of yield, due to these reasons it was used for edible film production. When films were compared with each other, the film which was contained carotenoid consantrate were higher than the other film in terms of antioxidant activity and water solubility values.

**Keywords :** Gilthead sea bream processing wastes, fish gelatin, edible film.



## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca yardımlarını benden hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam ve danışmanım Yrd. Doç. Dr. Can ALTINELATAMAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışmanın gerçekleştirildiği yer olan Instituto del Frio'daki değerli hocalarım M. Pilar MONTERO GARCÍA ve M. Carmen GÓMEZ GUILLEN'e ve enstitü çalışanlarına desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım süresince maddi ve manevi katkıları ve özverileri için sevgili eşim Bedri AKAGÜNDÜZ'e sonsuz teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemdeki emeklerinden ötürü sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

Ö. Yeşim AKAGÜNDÜZ  
Ağustos, 2010





**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vii
TEŞEKKÜR .....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xv
KISALTMALAR VE SEMBOLLER .....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOT .....	13
2.1. Kimyasallar ve Enzimler .....	13
2.2. Karotenoid Konsantresinin Hazırlanması.....	13
2.3. Çipura Atıklarının Hazırlanması .....	13
2.4. Çipura iskelet ve yüzgeçlerinden jelatin elde edilmesi .....	13
2.4.1. Kas proteinlerinin uzaklaştırılması amacıyla enzim uygulanması .....	14
2.4.2. Kas proteinlerinin uzaklaştırılması amacıyla asit uygulanması .....	15
2.4.3. Kas proteinlerinin uzaklaştırılması amacıyla alkali uygulanması .....	16
2.5. Çipura pullarından jelatin elde edilmesi.....	18

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
2.6. Pullardan elde edilen jelatinden film oluşturulması ve formülasyonu.....	19
2.7. Pullardan elde edilen jelatininden karotenoid konsantresi eklenerek film oluşturulması ve formülasyonu .....	19
2.8. Çalışmada Elde Edilen Jelatinlerin Özelliklerinin Belirlenmesi.....	20
2.8.1. Jel dayanımı.....	20
2.8.2. FRAP analizleri .....	20
2.8.3. ABTS analizleri.....	21
2.8.4. Nem içeriği.....	21
2.9. Filmlerin Özelliklerinin Belirlenmesi .....	22
2.9.1. Film kalınlığı.....	22
2.9.2. Renk ölçümleri .....	22
2.9.3. Şeffaflık.....	22
2.9.4. Mekanik Özellikler.....	22
2.9.5. FRAP analizleri.....	23

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
2.9.6. ABTS analizleri .....	23
2.9.7. Su buharı geçirgenliği.....	24
2.9.8. Suda çözünürlük .....	24
2.9.9. Su aktivitesi .....	24
3. BULGULAR .....	25
3.1. Jelatinler.....	25
3.1.1. Jelatin elde edilmesi.....	25
3.1.2. Jel dayanımı .....	25
3.1.3. FRAP analizleri .....	25
3.1.4. ABTS analizleri .....	26
3.1.5. Nem içeriği .....	26
3.2. Filmler .....	26
3.2.1. Film kalınlığı .....	26
3.2.2. Renk ölçümleri .....	27

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
3.2.3. Şeffaflık .....	27
3.2.4. Mekanik özellikler.....	27
3.2.5. FRAP analizi .....	28
3.2.6. ABTS analizi.....	28
3.2.7. Su buharı geçirgenliği.....	28
3.2.8. Suda çözünürlük .....	29
3.2.9. Su aktivitesi.....	29
4. TARTIŞMA .....	30
5. SONUÇ .....	33
KAYNAKLAR DİZİNİ .....	34
ÖZGEÇMİŞ .....	41

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1 Deniz kökenli gıda maddeleri .....	3
Çizelge 1.2 Kollajenin sınıflandırılması .....	4
Çizelge 1.3 Kollajen ve jelatinin içerdiği amino asitler .....	5
Çizelge 1.4 Yenilebilir film ve kaplamaların bileşenleri .....	11
Çizelge 1.5 Protein filmlerde sıklıkla kullanılan plastikleştiriciler.....	12
Çizelge 2.1 İskelet ve yüzgeçlerden alkalaz kullanılarak jelatin elde etme şeması .....	15
Çizelge 2.2 İskelet ve yüzgeçlerden HCl kullanılarak jelatin elde etme şeması .....	16
Çizelge 2.3 İskelet ve yüzgeçlerden NaOH kullanılarak jelatin elde etme şeması.....	17
Çizelge 2.4 Çipura pullarından NaCl ve NaOH kullanılarak jelatin elde etme şeması .....	19
Çizelge 3.1 Çalışmada elde edilen jelatinlerin verim oranları .....	25
Çizelge 3.2 Çalışmada elde edilen jelatinlerin jel dayanımı değerleri.....	25
Çizelge 3.3 Çalışmada elde edilen jelatinlerin FRAP ölçümü değerleri ....	26
Çizelge 3.4 Çalışmada elde edilen jelatinlerin ABTS ölçümü değerleri ....	26

**ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.5 Farklı şekillerde elde edilen jelatinlerin nem içeriği değerleri .....	26
Çizelge 3.6 Filmlerin kalınlık değerleri.....	26
Çizelge 3.7 Filmlerin renk ölçümü değerleri.....	27
Çizelge 3.8 Filmlerin şeffaflık değerleri .....	27
Çizelge 3.9 Filmlerin mekanik özellikleri .....	27
Çizelge 3.10 Filmlerin FRAP ölçümü değerleri.....	28
Çizelge 3.11 Filmlerin ABTS ölçümü değerleri.....	28
Çizelge 3.12 Filmlerin su buharı geçirgenliği değerleri.....	28
Çizelge 3.13 Filmlerin suda çözünürlük değerleri .....	29
Çizelge 3.14 Filmlerin su aktivitesi değerleri.....	29

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
$\text{gmmh}^{-1}\text{cm}^{-2}\text{Pa}^{-1}$	Kazanılan ağırlık ve kalınlık değerinin birim zamanda geçen süre, geçirgenlik alanı, kuru atmosfer ve saf su arasındaki kısmi su buhar basınç farkına bölünmesi
N	Newton
<u>Kısaltmalar</u>	
ABTS	2,20-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sülfonik asit
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
FRAP	Ferric Reducing Ability of Plazma
İJ-A	İskelet ve yüzgeçlerden alkalaz çözeltisi ile elde edilen jelatin
İJ-H	İskelet ve yüzgeçlerden HCl çözeltisi ile elde edilen jelatin
İJ-N	İskelet ve yüzgeçlerden NaOH çözeltisi ile elde edilen jelatin
PF	Pullardan elde edilen jelatin ile hazırlanan film
PCF	Pullardan elde edilen jelatin ve karotenoid konsantresi ile hazırlanan film
TPTZ	Tripiridiltriazin
VCEAC	C vitamininin eşdeğer antioksidan kapasitesi



## 1. GİRİŞ

Balık ve deniz ürünleri işleme atıklarından gıda maddeleri üretimi giderek büyüyen ve ilgi çeken bir alandır. Bu yolla işleme atıklarının azaltılması ve ham maddelerin daha verimli kullanılmasına imkan tanınmaktadır.

Dünya çapındaki balık ve kabuklu deniz ürünlerinin ticari üretim miktarlarının artması ile birlikte, balık işleme atıklarının miktarları giderek artmaktadır, son zamanlarda yakalanan balıkların toplam ağırlıklarının % 70 – 85' ine kadar olan miktarları atıkları oluşturmaktadır (Shahidi, 1994; Rasmussen ve Morrissey, 2007). Balık işleme endüstrisi deri, iskelet ve yüzgeçlerden oluşan oldukça büyük çapta balık atığının (yılda yaklaşık 7.3 milyon ton) atılmasına yol açar (Kelleher, 2005; Karim ve Bhat, 2009). Geleneksel olarak balık işleme atıkları karalara dökülmekte, yakılmakta ya da okyanuslara taşınmaktadır (Shahidi, 1994; Suresh ve Chandrasekaran, 1998; Rasmussen ve Morrissey, 2007).

Bununla birlikte teknolojinin gelişmesi sayesinde balık ve deniz ürünleri işleme atıkları daha çok balık yemi için artan talepleri karşılamak amacıyla kullanılmaktadır. Aynı zamanda yeni ürünlerin geliştirilmesi ve ticari öneme sahip olan biyomoleküllerin kullanılmayan av atıkları ve balık işleme atıklarından elde edilmeleri araştırma için önemli bir alandır (Shahidi ve Kamil, 2001; Okada ve Morrissey, 2007; Rasmussen ve Morrissey, 2007).

Çok sayıda ülke bu çalışma alanına olan ilgilerini arttırmaktadırlar. Çünkü bu çalışma alanının atıkları azaltmaya yardım etmesi ve işleme atıklarının çevresel ve etik ihtiyaçların böylece karşılanması ve doğal olarak denizden elde edilen değerli ürünlerin geliştirilmesi ile sonuçlanabilmektedir (Oshima, 1998; Gudmundsottir ve Palsdottir, 2005; Okada ve Morrissey, 2007; Rasmussen ve Morrissey, 2007).

Yan ürün terimi, olağan şekli ile satılamayan fakat iyileştirme işleminden sonra geri dönüştürülebilen işleme atıklarının birçok durumda atıklardan ayrılması olarak tanımlanır (Kim ve Mendis, 2006). Örneğin Japonya'da işleme atıkları, kitin ve kitosan, PUFA, akuakültür için büyüme hormonları, gıdalarda antibakteriyel ajan olarak kullanılmaları için protaminler ve bazı farmasötik bileşenler gibi çok sayıda biyomolekülü başarılı bir şekilde ticari olarak üretilmeleri için kullanılmaktadırlar (Oshima, 1998; Rasmussen ve Morrissey, 2007).

Balık ve deniz ürünlerinden bazı ek gıda maddeleri elde edilmektedir. Balık ve deniz ürünleri aynı zamanda albümin ve jelatin gibi proteinler ve benzersiz özellikleri ile çok sayıda değerli enzim de içermektedir (Rasmussen ve Morrissey, 2007).

Sonuç olarak bütün balık işleme atıkları, atılmaktan ziyade kullanılmalıdır. Balık işleme atıklarının kullanımı için seçenekler aşağıda sıralanmaktadır (Kaynak: UNEP Report, 1999; Visvanathan ve ark., 2008);

- Biyokimyasalların ve diğer farmasötiklerin elde edilmesi
- Renk katkılarının elde edilmesi
- Deri ve iskeletlerden jelatin üretimi
- Katı atıkların yağ üretiminde ve balık yemi üretiminde kullanımı
- Katı atıkların silaj üretiminde kullanımı
- Katı atıkların kompost üretiminde kullanımı
- Katı atıkların direk gübre olarak kullanımı
- Katı atıkların yem olarak kullanılan balık parçaları şeklinde yada balık yemlemede kullanımı
- Katı atıkların hayvan beslenmesi için kullanımı

Örneğin Yeni Zelanda balık işlemecileri balık işleme atıklarının katı atık şeklinde gömülmesine alternatif bir yöntem aramaya karar verdiler. Oldukça kapsamlı araştırmalardan sonra, şirket balık biyo-çürütme ünitesi kurdu. Anaerobik sindirim kullanarak, fabrika şimdi iki faydalı yan ürün, metan ve gübre üretmektedir. Metan (biyogaz) fabrikanın enerji gereksinimini tedarik etmede ve çürütme ünitesini ısıtmada kullanılmaktadır (Kaynak: UNEP Report, 1999; Visvanathan ve ark., 2008)

Son zamanlarda balıkçılık yan ürünlerinin büyük kısmı balık yağı, balık yemi, gübre, evcil hayvan yemi ve balık silajı üretiminde kullanılmaktadır (Choudhury & Gogoi, 1995; Choudhury & Bublitz, 1996; Kim ve Mendis, 2006). Bununla birlikte bu geri dönüştürülen ürünlerin çoğu düşük ekonomik değer taşır. Son günlerdeki çalışmalarla balık kası proteinleri, kollajen ve jelatin, balık yağı, balık iskeleti, iç organlar, kabuklular ve krustaselerin kabuklarında bulunan çok sayıda biyoaktif bileşenler tanımlanmaktadır (Kim ve ark, 2001; Jeon & Kim, 2002; Je, Park, Jung, & Kim, 2005; Kim ve Mendis, 2006).

Biyoaktif bileşenler biyoteknolojik ya da farmasötik uygulamalar için kullanılan biyopolimerler, biyoaktif peptidler ve enzimlerden oluşmaktadır (Rustad, 2003).

Çizelge 1.1 Deniz kökenli gıda maddeleri (Rasmussen ve Morrissey, 2007).

FOTOSENTETİK PİGMENTLER	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Karotenoidler <ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\beta</math>- karoten</li> <li>• Astaksantin</li> <li>• Diğer karotenoidler</li> </ul> </li> <li>2. Fikobiliproteinler</li> <li>3. Klorofiller</li> </ol>
LİPİDLER	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Deniz kaynaklı uzun zincirli PUFAs (LC-PUFAs) <ul style="list-style-type: none"> <li>• n-3 (LC-PUFAs) kaynağı olarak mikroalgler</li> <li>• n-3 (LC-PUFAs) kaynağı olarak balıklar</li> <li>• n-3 (LC -PUFAs) kaynağı olarak mantarlar</li> <li>• n-3 (LC-PUFAs) kaynağı olarak genetiği değiştirilmiş organizmalar</li> <li>• n-3 (LC-PUFAs) kaynağı olarak ekstremofiller</li> <li>• n-3 (LC-PUFAs) kaynağı olarak makroalgler ve yosunlar</li> <li>• n-3 (LC-PUFAs) kaynağı olarak kriller</li> </ul> </li> <li>2. Steroller</li> </ol>
PROTEİNLER	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kollajen/ Jelatin</li> <li>2. Albumin</li> <li>3. Protamin</li> </ol>
POLİSAKKARİTLER	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Alglerden gelen polisakkaritler <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hidrokolloidler</li> <li>• Fukanlar / Fukanoidler ve diğer polisakkaritler</li> </ul> </li> <li>2. Siyanobakterlerden gelen ekzopolisakkaritler</li> <li>3. Ekstremofillerden gelen ekzopolisakkaritler</li> <li>4. Kitin ve kitosan</li> </ol>
ENZİMLER	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Sindirim proteazları</li> <li>2. Lipazlar</li> <li>3. Polifenol oksidazlar</li> <li>4. Kitinolitik enzimler</li> <li>5. Transglutaminaz</li> <li>6. Ekstremofilik enzimler</li> <li>7. Kırmızı alglerden gelen enzimler</li> </ol>

Deniz kökenli proteinler gıdalarda fonksiyonel bileşenler olarak umut vericidirler çünkü film ve köpük oluşturma kapasitesi, jel oluşturma yeteneği ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olmak gibi çok sayıda önemli ve eşsiz özellik gösterirler. Gıdalarda kullanılan deniz kaynaklı proteinlerin en çok rastlanılanları kollajen, jelatin ve albumindir. Bunların hepsi balık ve deniz ürünleri işleme atıklarından elde edilebilirler. Protamin proteininin gıda endüstrisinde doğal bir antibakteriyel koruyucu olarak kullanımı da gıda endüstrisi için umut vermektedir (Rasmussen ve Morrissey, 2007).

Kollajen insanların ve hayvanların vücudunda en bol bulunan proteindir. Kollajen ciltte, kemiklerde, kıkırdakta ve bağlarda bulunan bağ doku proteindir. Hayvanlardaki toplam proteinin % 30' unu oluşturduğu ve hem karasal hemde denizel kaynaklardan elde edilebildiği rapor edilmektedir (Senaratne ve ark., 2006; Rasmussen ve Morrissey, 2007). Karasal ve denizel kaynaklardan elde edilen kollajenler arasındaki farklılıklar muhtemelen organizmaların yaşadıkları çevre şartlarının farklılığından kaynaklanmaktadır.

Kollajen gıda, kozmetik ve farmasötik endüstrilerinde yaygın olarak kullanılır. Gıdalardaki başlıca kullanımı et endüstrisinde sosis gibi ürünler için yenilebilir kaplamalar şeklindedir (Rasmussen ve Morrissey, 2007).

Şu ana kadar 27 değişik kollajen tipi tanımlanmıştır ve Çizelge 1.2' de gösterilmektedir (Schrieber ve Gareis, 2007; Karim ve Bhat, 2009). Kollajen klasik olarak üç polipeptid zincirinin en az bir üçlü sarmal yapı içeren,  $\alpha$  zincirleri olarak isimlendirilen, Gly-X-Y sıralaması ile tekrar eden hücre dışı matriks proteini olarak tanımlanır (Wolf, 2003). Üçlü sarmal yapısında bulunan her zincir saat yönünün tersinde döner. Bu üçlü sarmal yapısı yaklaşık 300 nm uzunluğundadır ve zincir yaklaşık olarak 105 kDa molekül ağırlığındadır (Papon ve ark., 2007; Karim ve Bhat, 2009). Endüstriyel jelatinler farklı bileşenlerin karışımlarıdır:  $\alpha$ -zincirleri (bir polimer zinciri),  $\beta$ -zincirleri (çapraz kovalent bağla bağlı iki  $\alpha$ -zinciri),  $\gamma$ -zincirleri (çapraz kovalent bağla bağlı üç  $\alpha$ -zinciri) (Papon ve ark., 2007; Karim ve Bhat, 2009).

Çizelge 1.2 Kollajenin sınıflandırılması (Schrieber ve Gareis, 2007; Karim ve Bhat, 2009).

Tip	Tanımlama
Tip I	Bu tip başlıca yaygın olarak bağ dokuda (deri, kemik ve tendonlarda) görülür.
Tip II	Bu kollajen tipi kıkırdak dokularında görülür
Tip III	Bu tip kuvvetle yaşa bağlıdır: çok genç ciltlerin % 50'sine kadar olan kısmını oluşturabilir, fakat zamanla % 5-10 a kadar düşer.
Diğer	Diğer kollajen tipleri çok düşük miktarlarda ve daha çok özel organlarda bulunurlar.

Kollajen üst ailesi, karmaşık molekül yapıları ve diğer özelliklerine dayanılarak, sekiz sınıfa ayrılabilir. En çok bulunanları tip I, II ve III kollajenler ve tip V ve XI kollajenler hücre dışı lifcikleri oluştururlar ve sonuç olarak lifcik şekilli kollajen olarak adlandırılırlar (Kivirikko ve Prockop, 1995; Bateman ve ark., 1996; Myllyharju ve Kivirikko, 2001; Wolf, 2003). Örneğin ağ şekilli yapıları oluşturan diğer kollajen tipleri kollajen lifciklerinin yüzeyine bağlanırlar, boncuklu ince iplik ve bağlayıcı lifcik oluşumlarında transmembran proteinleridirler (Kivirikko ve Prockop, 1995; Myllyharju ve Kivirikko, 2001; Wolf, 2003). Bunların bir çoğu kollajenin üçlü sarmal yapısının arasına giren, kollajen olmayan yapılar içerirler (Kivirikko ve Prockop, 1995; Myllyharju ve Kivirikko, 2001; Wolf, 2003). Kollajen lifcikleri heterotipiktirler yani bir kollajen tipinden daha fazla kollajen içerirler. Örneğin derideki kollajen lifcikleri tip I ve tip III kollajenden oluşmaktadır (Wolf, 2003).

Kendiliğinden bir araya gelen lifciklerin oluşumu ile sonuçlanan kollajen molekülleri kovalent çapraz bağların oluşumu tarafından dengede tutulur (Myllyharju ve Kivirikko, 2001; Wolf, 2003). Çapraz bağlılığın derecesi kollajenin yaşı ile (kollajenin elde edildiği dokunun yaşı ile) artar ve bu kollajenin çözünürlüğünün azalması ile sonuçlanır. Çözünebilir kollajen ve jelatin üretimi için çapraz bağların kırılması zorunludur (Eyre ve ark., 1984; Wolf, 2003).

Kollajen ve jelatin 18 farklı amino asitten oluşur (Çizelge 1.3). Kollajen glisin (yaklaşık toplam rezidülerin 1/3' ü oranında), hidroksiprolin ve prolin içeriği bakımından zengindir. Aynı zamanda hidroksilizin içererek triptofanı uzaklaştıran tek proteindir. Memeli kollajeni balık kollajenine göre hidroksiprolince zengindir (Foegeding ve ark., 1996; Arvanitoyannis, 2002). En küçük amino asit olan ve üçlü sarmal yapıda her üçüncü pozisyonda yer alan glisinin varlığı önemlidir, çünkü daha geniş amino asitler üçlü sarmalın merkezinde bulunan kısıtlı alanın içine sığmazlar. Prolin sıklıkla X pozisyonunda ve 4-hidroksiprolin Y pozisyonunda bulunur. 4-hidroksiprolin residüsü üçlü sarmal yapısının dengelenmesinde önemli bir role sahiptir (Wolf, 2003).

Kollajen lipofilik rezidülerinden çok daha fazla miktarlarda asidik, bazik ve hidroksile amino asit rezidüleri içerdiği için hidrofilik bir proteindir (Arvanitoyannis, 2002).

Çizelge 1.3 Kollajen ve jelatinin içerdiği amino asitler (Arvanitoyannis, 2002).

• Alanin	• Hidroksilizin	• Fenilalanin
• Arginin	• Hidroksiprolin	• Prolin
• Aspartik asit	• İzolösin	• Serin
• Glutamik asit	• Lösin	• Treonin
• Glisin	• Lizin	• Tirosin
• Histidin	• Metiyonin	• Valin

Jelatin kollajenin kısmi hidrolizi sonucu oluşmuş olan bir protein ürünüdür. Jelatinin elde edilme aşaması polipeptid zincirinin uzunluğunu ve jelatinin işlevsel özelliklerini etkileyebilir. Bu işlem basamaklarının parametrelerine bağlıdır (Karim ve Bhat, 2009).

40 °C'nin üzerinde ardarda yapılan ısı işlemler (balık jelatini için sarmaldan helezona dönüşüm sıcaklığının iyice üzerinde olan) hidrojen bağlarını yıkar ve bir dizi kovalent bağları ayırır, ki bu da üçlü sarmalın, sarmaldan helezona geçiş dengesini bozarak çözünebilir jelatine dönüşme ile sonuçlanır (Djabourov ve ark., 1993; Karim ve Bhat, 2009).

Jelatine dönüşümü esnasında kollajen denatüre olur ve kısmen hidrolize olur. Kollajen kovalent bağlar aracılığıyla birbirlerine bağlanan lifciklerin oluşturduğu katı bar gibi moleküllerden meydana gelir. Üç polipeptid zinciri içeren moleküller, hidrofobik bağlar ve hidrojen bağları tarafından sabitlenen üçlü sarmal yapısında sıralanmışlardır. Bu polipeptid zincirleri arasında molekül içi kovalent bağlar oluşabilir. Üç bölgelerdeki moleküller sarmal şeklinde olmayan telopeptidlerdirler (Balian ve Bowes, 1977; Wolf, 2003). Kollajenin jelatine dönüşmesinde, üçlü sarmal yapısı hidrofobik bağların ve hidrojen bağlarının yıkılması nedeniyle dağılır ve bunu zincirlerin dolaşıklığının açılması ve moleküllerin daha küçük bileşenlere bölünmesi takip eder. Bu daha küçük bileşenlerin moleküler yapısı hayvansal madde kaynağının yaşına ve ön işlem metoduna göre değişiklik gösterir (Wolf, 2003).

Jelatin üretiminde, işlem görmüş dokulardan elde edilen kollajen, sıcak su ile denatüre olur ve üçlü sarmal yapısı bireysel çözünebilir zincirlere, küçük polimerlere ya da parçalara dönüşür. Soğutmada, zincirler yeni üçlü sarmal yapısına geri sarılabilirler (Finer ve ark.,1975; Wolf ve Keller, 1996 ; Wolf, 2003), ama ille de kollajenin yapısındaki aynı doğal kaydıyla değil de, üçlü sarmalın tekrar oluşumunda bir miktar kısıtlama ile olur. Üçlü sarmal bileşenlerinin tekrar oluşumuna jelleşme için gerekli olan birleşme bölgeleri yol açar (Finer ve ark.,1975; Keller ve Wolf, 1998 ; Wolf, 2003).

Jelatinin kısmen düzenli biçimde birbirine bağlanan yaklaşık 18 amino asit içerdiği rapor edilmiştir. Jelatin molekülünde üç amino asit grubu baskındır. Glisin yada alanin toplam amino asit rezidülerinin yaklaşık üçte birinden yarısına kadar olan kısmını oluşturur (Bernard ve Braswell, 1957; Charley, 1992; Djagny ve ark., 2001). Glisin alkali işlem görmüş jelatinin N- ucu baskın rezidüsüdür, tam tersine alanin asit işlem görmüş jelatinde daha fazla olma eğilimindedir. Yaklaşık amino asit rezidülerinin dörtte biri ya prolin ya da hidroksiprolindir ve yaklaşık dörtte biri bazik ya da asidiktir. Bir esansiyel amino asit ve aromatik asit rezidüsü olan triptofanın yokluğu vurgulanmaktadır (Loofbourow ve ark., 1949; Bender ve ark., 1953; Djagny ve ark., 2001).

Ticari yenilebilir jelatinin molekül ağırlığı 40,000 ila 90,000 D arasındadır (Djagny ve ark., 2001). Bütün jelatin üretim aşamaları üç ana bölümden oluşmaktadır: ham maddenin ön işleme tabi tutulması, jelatin elde edilmesi, saflaştırma ve kurutma. Asit ile muamele süresince hiç kovalent bağ yıkılmaz, bundan dolayı ham maddeler daha genç hayvanlardan elde edilir, bu hammaddelerin kollajenleri daha az çapraz bağlı olmalıdırlar (Wolf, 2003). Jelatin eldesi süresince, kollajendeki hidrofobik bağlar ve hidrojen bağları ısı ve su etkisi ile jelatin üretmek üzere yıkılır. Bunu zincirlerin dolaşıklığının açılması ve daha küçük bileşenlere ayrılma takip eder (Wolf, 2003).

Jelatinin karakterize edilmesinde en önemli özellikler jel dayanımı, viskozite, jelleşme ve erime noktalarıdır. Bu özellikler ortalama molekül ağırlığı ve molekül ağırlığı dağılımı, jelatin solüsyonunun derişimi, jel olgunlaşma süresi, jel olgunlaşma sıcaklığı, pH ve mineral içeriği gibi bir çok faktörden etkilenir (Karim ve Bhat, 2009).

Dünya genelinde jelatin ihtiyacı yıllardan beri artmaktadır. Son raporlar dünyadaki yıllık jelatin üretiminin yaklaşık 326,000 ton olduğunu göstermektedir, % 46 ile en fazla miktarı oluşturan domuz derisinden elde edilen jelatin, % 29.4 ile sığır derisinden elde edilen jelatin, % 23.1 ile sığır kemiklerinden elde edilen jelatin ve % 1.5 ile diğer kaynaklardan elde edilen jelatin dünyadaki yıllık jelatin üretiminin kaynaklarını oluşturmaktadır (GME, 2008; Karim ve Bhat, 2009). Balık jelatini dünyadaki yıllık jelatin üretiminin sadece % 1'ini oluşturmaktadır (Arnesen ve Gildberg, 2006; Karim ve Bhat, 2009). Dünya genelinde üretilen jelatinin yaklaşık % 50' si Avrupa'da, yaklaşık % 50' si gıda endüstrisi, % 25' i farmasötik endüstrisi ve geri kalan % 25' i de fotoğrafçılık sektöründe kullanılmaktadır (Wolf, 2003).

Jelatin sahip olduğu eşsiz işlevsel ve teknolojik özellikleri nedeniyle gıda, farmasötik, kozmetik ve fotoğrafçılık uygulamalarında yaygın bir şekilde kullanılan en popüler biyopolimerlerden biridir.

Gıda endüstrisinde; jelatin şekerlemelerde (özellikle çiğnenebilirlik, kıvam ve köpük dengelenmesinin sağlanmasında), az yağlı gıdalarda (kaymaksılık sağlamada, yağ azaltmada), süt ürünlerinde (dengeleme ve kıvam sağlamada), pastacılıkta (jelleşme, dengeleme ve emülsiyon haline getirmenin sağlanmasında) ve et ürünlerinde (su bağlanması sağlamada) kullanılır (Johnston-Banks, 1990; Schrieber&Gareis, 2007; Karim ve Bhat, 2009). Jelatin uzun zamandan beri gıda endüstrisinde durultucu ajan, stabilizör ve koruyucu kaplama maddesi olarak kullanılmaktadır (Salgues ve Bidan., 1984; Adler-Nissen, 1985; Djagny ve ark, 2001).

Farmasötik ve medikal alanda; jelatin tedavi amacı ile cerrahi yöntemlerden yararlanarak vücut içine konan sert maddeler için bir hücre arası madde olarak, zerk edilebilen ilaç taşıyan mikroküreciklerde ve damar içine ilaç zerk etmede kullanılır (Saddler ve Horsey, 1987; Pollack 1990; Rao, 1995; Karim ve Bhat; 2009). Farmasötik endüstrisinde de jelatin yaygın olarak sert ve yumuşak kapsüller, plazma genişleticileri, ve paraj üretiminde kullanılır.

Canlı değeri dūřürölmüř viral aşılarda kızamık, kabakulak, kızamıkçık, Japon ensefalitisi, kuduz, difteri ve tetanoza karşı bağışıklık oluşturmak için bu hastalıkların toksinlerini içeren jelatin stabilizör olarak kullanılır (Burke ve ark., 1999; Karim ve Bhat, 2009).

Jelatinin düşük kalorili olmasından dolayı gıda maddelerinin protein seviyelerinin arttırılması ve özellikle vücut geliştirme maksatlı kullanılan gıdalarda kullanılması tavsiye edilir. Ayrıca jelatin diyabetik hastalar için hazırlanan gıda maddelerinde karbonhidrat seviyesinin düşürülmesinde de kullanılır (Karim ve Bhat, 2009).

İslamiyet ve Yahudilik'te domuzla ilişkili her ürünün tüketimi yasaklanmışken, Hinduizm' de inek ile ilişkili gıdaların tüketimi yasaktır, bunun yanı sıra dünya genelinde artan ve katı kısıtlamaları olan bir vejeteryanlık akımı vardır.

Araştırmacılar arasında hayvansal dokulardan elde edilen kollajenve jelatinin prionlar gibi patojenik taşıyıcıların bulaştırılması yeteneğinde olup olmadıkları hakkında artan bir endişe vardır (Wilesmith ve ark., 1991; Karim ve Bhat, 2009). Buna rağmen çeşitli otoriteler tarafından yürütölmüş çalışmalar jelatin üretim aşamalarının olası BSE (deli dana hastalığı) prionlarına karşı etkili bir engel olduklarını göstermektedir. Örneğin Mart 2003' te Avrupa Birliğinin Bilimsel İdare Komitesi " Sığır kemik jelatini ile ilgili riskin sifıra yakın olduğunu onaylamıştır"(Schrieber ve Gareis, 2007; Karim ve Bhat, 2009).

Genel olarak balık derisinde bulunan kollajen memelilerin derilerinde bulunan kollajenden daha geniş çeşitlilikte amino asit kompozisyonu içerir. Balık jelatininin hidroksprolin ve daha düşük düzeylerdeki prolin içeriği memelilerinkilerden daha düşüktür ve bu daha yüksek serin ve treonin içerikleri tarafından telafi edilir (Balian ve Bowes, 1977; Karim ve Bhat, 2009). Genellikle balık kollajeni memeli kollajeninden daha düşük imino asit içeriğine sahiptir ve bu da düşük denaturasyon sıcaklığına sahip olması için neden olabilir. Kollajenin kaynağı ve tipi elde edilen jelatinin özelliklerini etkiler (Grossman ve Bergman, 1992; Karim ve Bhat, 2009). Balık jelatini memeli jelatini ile karşılaştırıldığında daha düşük imino asit (prolin ve hidroksprolin) konsantrasyonuna sahiptir, sıcak su balıklarından elde edilen jelatin soğuk su balıklarından elde edilen jelatine kıyasla daha yüksek imino asit içeriğine sahiptir (Eastoe ve Leach, 1977; Karim ve Bhat, 2009).

Prolin ve hidroksprolin içeriği yaklaşık olarak; memeli jelatini için % 30, sıcak su balıklarından elde edilen jelatin için % 22-25 ve soğuk su balıklarından elde edilen jelatin için % 17' dir (Muyonga ve ark., 2004; Karim ve Bhat, 2009).

Düşük prolin ve hidroksprolin içeriği balık jelatinine düşük jel katsayısı ve düşük jelleşme ve erime noktalarını verir (Haug ve ark., 2004; Karim ve Bhat, 2009).



Amino asit kompozisyonu haricinde, jelatinin işlevsel özellikleri aynı zamanda molekül ağırlığı dağılımından, alt ünitelerinin kompozisyonu ve yapısından etkilenir (Zhou ve ark., 2004; Karim ve Bhat, 2009). Büyük miktarlardaki  $\beta$ - ve  $\gamma$ - zincirleri balık jelatininin viskozitesini düşürme, erime ve katılma noktalarını düşürme ve daha uzun katılma süresi ile sonuçlanma gibi işlevsel özelliklerinin bazılarını olumsuz yönde etkilediği gösterilmektedir (Muyonga ve ark., 2004; Karim ve Bhat, 2009).

Balık jelatininden film üretimi ve karakterizasyonu üzerine gerçekleştirilen çalışmalarda, bütün balık jelatinlerinin mükemmel film oluşturma özellikleri sergiledikleri gözlemlenmektedir (Avena- Bustillos ve ark., 2006; Jongjareonrak ve ark., 2006a; Jongjareonrak ve ark., 2006b; Gomez-Guillen ve ark., 2007; Karim ve Bhat, 2009).

Balık jelatini ağızda sakızimsı his uyandıran kalıntı bırakmaması ve düşük erime sıcaklığı nedeniyle çabuk çözünmesi ile sonuçlanan özelliklerinden dolayı memelilerden elde edilen jelatinlere iyi bir alternatiftir (Arnesen ve Gildberg, 2006; Karim ve Bhat, 2009).

Denizel kaynaklı jelatinler mükemmel emülsiyon stabilizörleri, kristal büyüme inhibitörleri, köpük ve film oluşturan ajanlar ve yenilebilir koruyucu kaplama malzemeleri veya durultucular olarak hizmet verebilirler (Norland, 1990; Haard ve ark., 1994; Djagny ve ark., 2001; Rasmussen ve Morrissey, 2007).

Denizel ve karasal kökenli jelatinlerin bir çok özelliklerinin benzer olmasına rağmen denizel kökenli jelatinler nispeten düşük sıcaklıklarda daha zayıf jel oluşturma ve daha düşük erime noktasına sahip olma eğilimindedirler (Leuenberger, 1991; Haard ve ark., 1994; Choi ve Regenstein, 2000; Rasmussen ve Morrissey, 2007). Bu değişiklikler muhtemelen denizel kökenli jelatinde bulunan prolin ve hidroksprolin seviyelerinin karasal kökenli kaynaklardan gelen jelatin ile kıyaslandığında daha düşük olması nedeniyledir (Gomez-Guillen ve ark., 2002; Rasmussen ve Morrissey, 2007).

Denizel kökenli jelatin dil balığı ve pisi balığı gibi yassı balıkların derilerinden , morina, morina benzeri pollock, Atlantik mezgiti, berlam, morina benzeri cusk türlerini içeren soğuk su balıkları ya da ahtapot ve kalamar gibi alternatif kaynaklardan asit veya alkali uygulama yöntemleri ile elde edilebilir (Norland, 1990; Djagny ve ark., 2001; Gomez-Guillen ve ark., 2002; Rasmussen ve Morrissey, 2007).

Jelatin kendi doğasında mevcut olan zincirler arası bağlar ya da karşılıklı etkileşimlerin oluşturduğu doğal bir jel olarak kategorize edilir (Van der Waal's etkileşimleri ve hidrojen bağları ile  $E \approx 2$  kcal/ mol). Jelatinin bağ enerjisi nisbeten düşüktür, sonuç olarak jelatin ısı etkisi ile dönüşebilen jel oluşturma yeteneğindedir (Papon ve ark., 2007; Karim ve Bhat, 2009).

Jel dayanımı ve jel erime noktası jelatin jellerinin temel fiziksel özelliklerindedir. Bunlar molekül ağırlığının yanı sıra amino asit kompozisyonu

ve jelatine bulunan  $\alpha/\beta$ - zincirlerinin oranı tarafından belirlenen karmaşık etkileşimler tarafından yönetilirler (Cho ve ark., 2004; Karim ve Bhat, 2009). Ek olarak jel dayanımı ile jelatine bulunan  $\alpha$ -zinciri içeriği ile kuvvetli bir ilişki vardır. Daha fazla  $\alpha$ -zinciri içeren jelatin daha yüksek jel dayanımı gösterir. Diğer taraftan, molekül ağırlıkları daha yüksek veya  $\alpha$ -zincirleri daha düşük peptidlerin fazla miktarı jel dayanımını düşürür (Liu ve ark., 2008; Karim ve Bhat, 2009). Jel dayanımı ticari jelatinlerde Bloom değeri kullanılarak ifade edilir. Bloom değeri standart koşullar altında sıcaklığı ayarlanmış bir jelin derinliğinin tanımlanması için, belirli bir pistonla standart bir yüzey üzerine baskı yapılması için gerekli olan gram cinsinden ağırlıktır (Schrieber ve Gareis, 2007; Karim ve Bhat, 2009). Ticari jelatinlerde jel dayanımı 100 ila 300 arasında dağılım gösterir, fakat 250- 260 arası Bloom değeri olan jelatinler en çok rağbet görenlerdir (Holzer, 1996; Karim ve Bhat, 2009).

Bazı sıcak su balık türlerinin jelatinlerinin nisebeten yüksek Bloom değeri -Bloom değeri yüksek olan domuz jelatinine yakın değerler- sergiledikleri rapor edilmektedir (Gudmundson ve Hafsteinsson, 1997; Karim ve Bhat, 2009). Böylesi yüksek jel dayanımları sadece tilapia (Grossman ve Bergman, 1992; Jamilah ve Harvinder, 2002; Zhou ve ark., 2006; Karim ve Bhat, 2009) ve ot sazanı (Kasankala ve ark., 2007; Karim ve Bhat, 2009) gibi sıcak su balıklarının derilerinden elde edilen jelatinlerden karakterize edilmiştir. Örneğin tilapia jelatini için Bloom değeri 128 ila 273 arasında değiştiği rapor edilmektedir (Jamilah ve Harvinder, 2002; Zhou ve ark., 2006; Karim ve Bhat, 2009).

Çeşitli jelatinler için geniş çapta bulunan Bloom değerleri, farklı türlerin kolajenlerinin prolin ve hidroksprolin içeriklerinin farklılıklarından kaynaklanır ve aynı zamanda hayvanın yaşadığı ortamın sıcaklığı ile de ilgilidir (Karim ve Bhat, 2009). Depolama süresince jelatinin jel dayanımının arttığı iyi bilinmektedir (Arnesen ve Gildberg, 2006; Karim ve Bhat, 2009).

Dünya nüfusunun artması ile ve çevrenin ve kısıtlı kaynakların üzerindeki baskının artması nedeniyle, ürün kalitesini geliştirebilen ve atık sorununu azaltan yenilebilir ve biyobozunur filmler üretmek için, yenilenebilir kaynakların kullanımı patlak vermiştir (Krochta, 2002).

Yenilebilir film ve kaplama uygulamalarının hedefleri (Krochta, 2002):

- Oksijen, aroma, yağ ve nem göçünün azaltılması
- Gıda ürününün sağlamlığının devam ettirilmesi
- Gıda ürününün görünümünün geliştirilmesi
- Kaplama malzemesi ve kaplama işlemi masraflarının azaltılması
- Ambalaj ihtiyacının azaltılması' dır.

Yaygın olarak yenilebilir filmler ve kaplamalar nem, oksijen, lezzet, aroma ve yağa karşı engel olma özelliği gösterirler, bu da gıda kalitesini geliştirir ve raf ömrünü uzatır. Yenilebilir film ya da kaplamalar aynı zamanda zedelenme ve parçalanmaları azaltarak gıda için bir nevi mekanik koruma sağlar ve bu da gıda bütünlüğünü korumaya yardımcı olur. Yenilebilir film ya da kaplamalar farklı su

aktivitesi, lezzet, aroma ve yağ içeren karışık gıdalarda, gıda bileşenleri arasında nem, lezzet, aroma ve yağa karşı engel olma özellikleri sağladığında gıdanın raf ömrü ve kalitesini artırır (Krochta, 2002). Yenilebilir film ve kaplamalar gıda maddesi ve çevre arasında nem, oksijen, aroma ve yağ geçişine engel olduklarında gıda maddesinin kalitesi ve raf ömrü de aynı zamanda artar. Yenilebilir film ve kaplamaların koruyucu işlevleri antioksidan ve antimikrobiyallerin eklenmesi ile artırılabilir. Gıdanın doğasına bağlı olarak yenilebilir film ve kaplamalar gıda kalitesini arttırmak için lezzet bileşenleri, besin vs. taşıyabilirler (Krochta, 2002).

Çizelge 1.4 Yenilebilir film ve kaplamaların bileşenleri (Krochta, 2002)

Proteinler	Hayvansal Proteinler	Kollajen Jelatin Miyofibriler balık proteini Keratin Yumurta akı proteini Kazein Peynir altı suyu
	Bitkisel Proteinler	Mısır zeini Buğday gluteni Soya Proteini Yer fıstığı proteini Keten tohumu proteini
Polisakkaritler	Nişasta Nişasta türevleri Selüloz türevleri Alginat Karagenan Kitosan Pektinat Çeşitli sakızlar	
Lipidler	Balmumu Kandelila mumu Karnauba mumu Trigliseridler Asetile monogliseridler Yağ asitleri Yağ alkolleri Sükroz yağ asidi esterleri	
Reçineler	Şellak Terpen	
Ek maddeler	Plastikleştiriciler Yüzey aktif maddeler Antioksidanlar Antimikrobiyal maddeler	

Protein film ve kaplamaları hidrojen bağları, elektrostatik kuvvetler, hidrofobik bağlar ve disülfid çapraz bağları aracılığıyla protein zincirlerindeki yaygın etkileşimler nedeniyle sıklıkla oldukça katı ve kırılındırlar. Nisbeten küçük molekül ağırlıklı protein zincirleri ile hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler ile mücadele eden hidrofilik plastikleştiriciler sıklıkla eklenir.

Plastikleştiricilerin eklenmesi sonucunda protein zincirinde zincir etkileşimleri düşürölür ve filmin esnekliği geliştirilir. Aynı zamanda filmin uzaması artar ve dayanımı azalır. Maalesef plastikleştiriciler filmin nem, oksijen, aroma ve yağa karşı engel olma yeteneğini genellikle düşürölürler. Protein filmlerinde sıklıkla kullanılan plastikleştiriciler izelge 1.5 ' de gösterilmektedir. Protein filmler için önemli bir plastikleştirici de sudur. Sonuçta filmin etrafındaki çevrenin nisbi nemi tarafından etkilenmesi nedeniyle, filmin nem içeriği filmin özellikleri üzerinde büyükçe bir etkiye sahiptir (Krochta, 2002).

Çizelge 1.5 Protein filmlerde sıklıkla kullanılan plastikleştiriciler (Krochta, 2002)

<ul style="list-style-type: none"><li>• Gliserol</li><li>• Propilen glikol</li><li>• Trietilen glikol</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Sorbitol</li><li>• Sükroz</li><li>• Polietilen glikol</li></ul>
---	---

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Kimyasallar ve Enzimler

Kullanılan bütün kimyasallar Panreac (Panreac Quimica, Barcelona, Spain) isimli şirketten tedarik edilmiştir. ABTS ( 2.20 – azinobis-( 3 ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid)) ( Roche, 10102946001, Germany) ,TPTZ tripridiltriazine ( Sigma, T1253, Connecticut, USA), Askorbik Asit ( Sigma, A7506, Steinheim, Germany) kullanıldı. Enzim olarak Alkalaz ( Proteaz from *Bacillus licheniformis*) (Sigma-Aldrich Inc., P4860, St Louis, Mo, USA) kullanılmıştır.

### 2.2. Karotenoid Konsantresinin Hazırlanması

Karideslerin kaynatılmasından sonra arta kalan katı parçacıkların santrifüjle çöktürülmesi yoluyla daha önceden elde edilmiş olan karotenoid konsantresi kullanılmıştır.

### 2.3. Çipura Atıklarının Hazırlanması

Çipura atıkları Culmarex (Culmarex S.A., Murcia, Spain) isimli akuakültür işletmesinden tedarik edilmiştir. Çipura atıkları; kafa, yüzgeçler, iskelet ( genellikle kuyruk kısmı iskelete dahil) ve pullardan oluşmaktadır. Daha önceden yapılan denemeler göz önüne alınarak, kafaların içerdiği önemli miktarda kas proteinleri ve kafanın yapısı gereği bu kas proteinlerinin uzaklaştırılmasının zorluğundan ötürü, bu çalışmada çipura kafalarının kullanılmaması öngörülmüştür. Çipura iskeletleri ve yüzgeçler fazla miktarda kas proteini içeriyordu, bu kas proteinlerini uzaklaştırmak amacıyla kemik ayırıcı olarak adlandırılan Baader (mod. 694-Germany) marka cihaz kullanılmıştır. Kas proteinlerinden kısmen uzaklaştırılan iskelet ve yüzgeçler kullanılıncaya kadar -20 °C de depolanmıştır. Çipura pulları kan, balık dışkısı ve iç organ parçacıkları gibi önemli miktarda safsızlık içerdiğinden dolayı bu pullar bolca akan musluk suyuyla bir dizi yıkama işlemine tabi tutulmuştur ve kullanılıncaya kadar -20 °C de depolanmıştır.

### 2.4. Çipura iskelet ve yüzgeçlerinden jelatin elde edilmesi

Çipura iskelet ve yüzgeçlerinden jelatin elde edilmesinden önce kas proteinlerinin uzaklaştırılması amacıyla üç farklı yöntem kullanılmıştır.

#### 2.4.1. Kas proteinlerinin uzaklaştırılması amacıyla enzim uygulanması

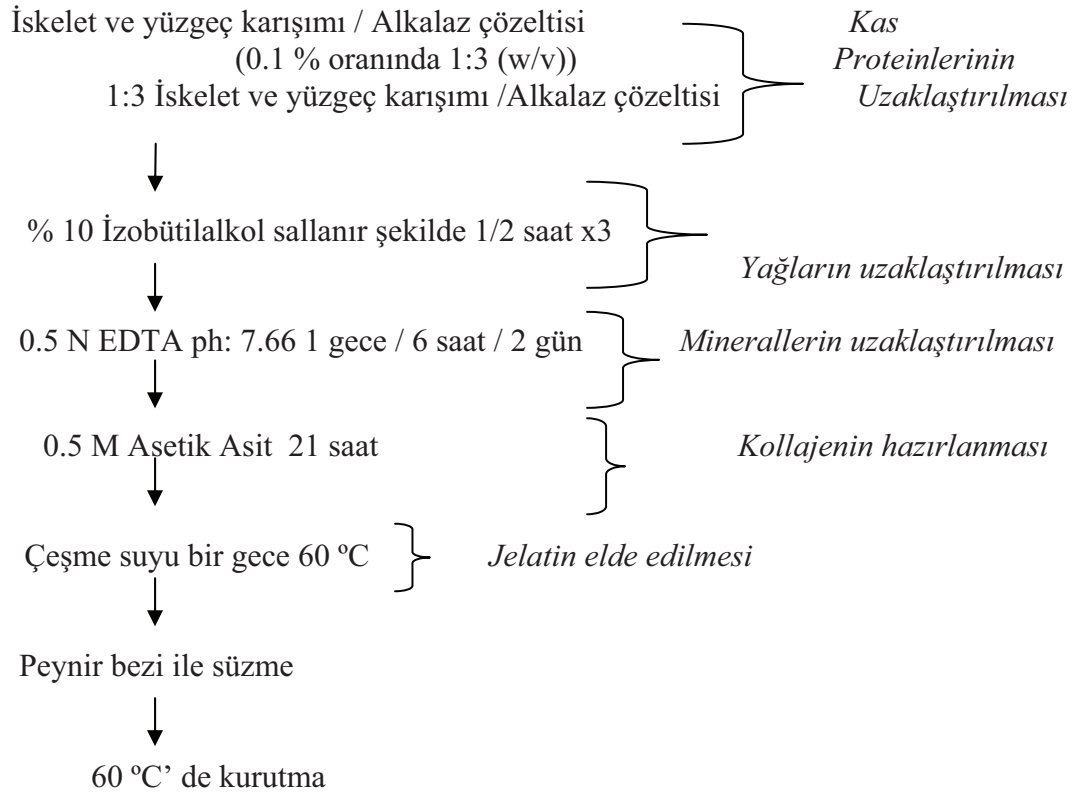
Kas proteinlerinin uzaklaştırılması amacıyla her 100 gr iskelet ve yüzgeç karışımı için 0.1 ml alkalaz ve 1/3 (w/v) iskelet ve yüzgeç karışımı/alkalaz çözeltisi kullanılmıştır. Alkalaz çözeltisi iskelet ve yüzgeç karışımı ile birlikte 55 °C' deki su banyosuna 30 dk süre ile enzim aktivasyonu için konulmuştur. Bu yarım saatten sonra sıcaklık 90 °C' ye yükseltilmiş ve 5 dk enzim inaktivasyonu için beklenilmiştir.

Yağları uzaklaştırmak amacıyla % 10'luk izobütilalkol 1/4 (w/v) oranında iskelet ve yüzgeç karışımı/izobütilalkol çözeltisi çalkalayıcıda (mod. HS 501 digital, IKA Werke GmbH&Co. KG, Staufen, Germany) sallanır bir şekilde 30 dk süre ile kullanılmıştır. Aynı işlem birbiri ardına üç kez tekrar edilmiştir. Çözeltinin değiştirilmesinde her seferinde bolca akan musluk suyuyla iskelet ve yüzgeç karışımı iyice yıkanmıştır. Bu üç işlem oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Mineral içeriğinin uzaklaştırılması amacıyla 0.5 N EDTA ( pH: 7.66) 1/4 iskelet ve yüzgeç karışımı/EDTA çözeltisi oranında kullanılmıştır. İskelet ve yüzgeç karışımı EDTA çözeltisinde bir gün süre ile çalkalayıcı (mod. HS 501 digital, IKA Werke GmbH&Co. KG, Staufen, Germany) ile sallanır bir şekilde bekletilmiştir (işlem oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir). Bu sürenin sonunda iskelet ve yüzgeç karışımı EDTA çözeltisinden alınmış, bolca akan musluk suyunda iyice yıkanmış ve EDTA (pH: 7.66) 1/4 iskelet+yüzgeç/ EDTA çözeltisi oranında eklenerek iki gün daha buzdolabında, hareketsiz bir şekilde bekletilmiştir.

Mineral içeriğinin uzaklaştırılması aşamasından sonra iskelet ve yüzgeç karışımı yıkanmış ve 0.5 M Asetik asit çözeltisi 1/3 (w/v) iskelet ve yüzgeç karışımı/Asetik asit çözeltisi oranında 21 saat süresince oda sıcaklığında hareketsiz bir şekilde bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda iskelet ve yüzgeç karışımı yıkanmış ve 1/3 (w/v) iskelet ve yüzgeç karışımı/çeşme suyu oranında çeşme suyu eklenerek 60 °C'deki hava kuvvetli fırına (ED 240 Binder, Tuttlingen, Germany) 7 saat süre ile konulmuştur. Bu 7 saatin sonunda çözelti peynir bezi olarak adlandırılan bezle süzülmüştür. Süzülen ürün 60 °C'deki hava kuvvetli fırında (ED 240 Binder, Tuttlingen, Germany) kurumaya bırakılmıştır. Aynı işlem üçüncü süzüntü ürünü tamamen kuruyuncaya kadar tekrar edilmiştir.

Çizelge 2.1 İskelet ve yüzgeçlerden alkalaz kullanılarak jelatin elde etme şeması



#### 2.4.2. Kas proteinlerinin uzaklaştırılması amacıyla asit uygulanması

Kas proteinlerini uzaklaştırmak amacıyla 0.5 M HCl çözeltisi kullanılmıştır. Çipura iskelet ve yüzgeç karışımı 0.5 M HCl çözeltisinde bir gece boyunca karıştırıcıda (model RW 20 Janke&Kunkel, IKA Werke GmbH&Co., Staufen, Germany) karıştırılarak oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda iskelet ve yüzgeç karışımı bolca akan çeşme suyunda iyice yıkanmış ve çözelti değiştirilmiştir. Yarım saat olacak şekilde aynı işlem üç kez tekrar edilmiştir.

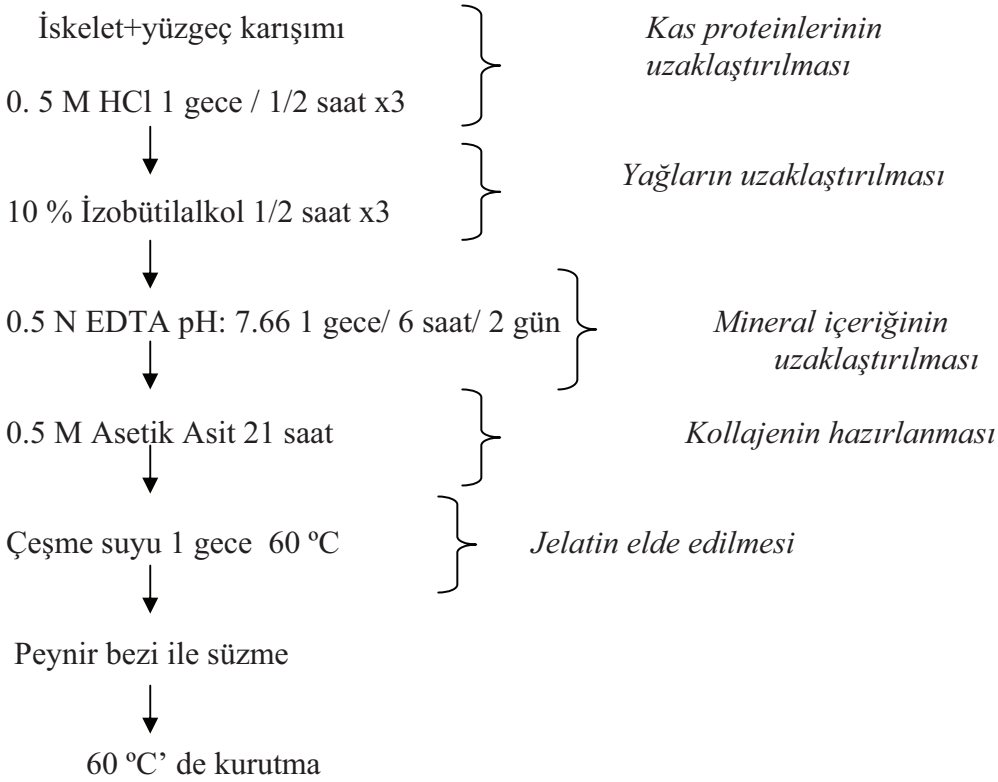
Yağları uzaklaştırmak için % 10'luk izobütanol 1/4 (w/v) oranında iskelet ve yüzgeç karışımı/izobütanol çözeltisi çalkalayıcıda (mod. HS 501 digital, IKA Werke GmbH&Co. KG, Staufen, Germany) sallanır bir şekilde 30 dk süre ile kullanılmıştır. Aynı işlem birbiri ardına üç kez tekrar edilmiştir. Çözeltinin değiştirilmesinde her seferinde bolca akan musluk suyuyla iskelet ve yüzgeç karışımı iyice yıkanmıştır. Bu üç işlem oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Mineral içeriğinin uzaklaştırılması amacıyla 0.5 N EDTA ( pH: 7.66) 1/4 iskelet ve yüzgeç karışımı / EDTA çözeltisi oranında kullanılmıştır. İskelet ve yüzgeç karışımı EDTA çözeltisinde bir gün süre ile çalkalayıcı (mod. HS 501 digital, IKA Werke GmbH&Co. KG, Staufen, Germany) ile sallanır bir şekilde

oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda iskelet ve yüzgeç karışımı EDTA çözeltisinden alınmış, bolca akan musluk suyunda iyice yıkanmış ve EDTA( pH: 7.66) 1/4 iskelet ve yüzgeç karışımı/EDTA çözeltisi oranında eklenerek iki gün daha buzdolabında, hareketsiz bir şekilde bekletilmiştir.

Mineral içeriğinin uzaklaştırılması aşamasından sonra iskelet ve yüzgeç karışımı yıkanmış ve 0.5 M Asetik asit çözeltisi 1/3 (w/v) iskelet ve yüzgeç karışımı/Asetik asit çözeltisi oranında 21 saat süresince oda sıcaklığında hareketsiz bir şekilde bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda iskelet ve yüzgeç karışımı yıkanmış ve 1/3 (w/v) iskelet ve yüzgeç karışımı/çeşme suyu oranında çeşme suyu eklenerek 60 °C'deki hava kuvvetli fırına (ED 240 Binder, Tuttlingen, Germany) 7 saat süre ile konulmuştur. Bu 7 saatin sonunda çözelti peynir bezi olarak adlandırılan bezle süzümüştür. Süzülen ürün 60 °C'deki hava kuvvetli fırında (ED 240 Binder, Tuttlingen, Germany) kurumaya bırakılmıştır. Aynı işlem üçüncü süzümü ürününü tamamen kuruyuncaya kadar tekrar edilmiştir.

Çizelge 2.2 İskelet ve yüzgeçlerden HCl kullanılarak jelatin elde etme şeması



#### 2.4.3. Kas proteinlerinin uzaklaştırılması amacıyla alkali uygulanması

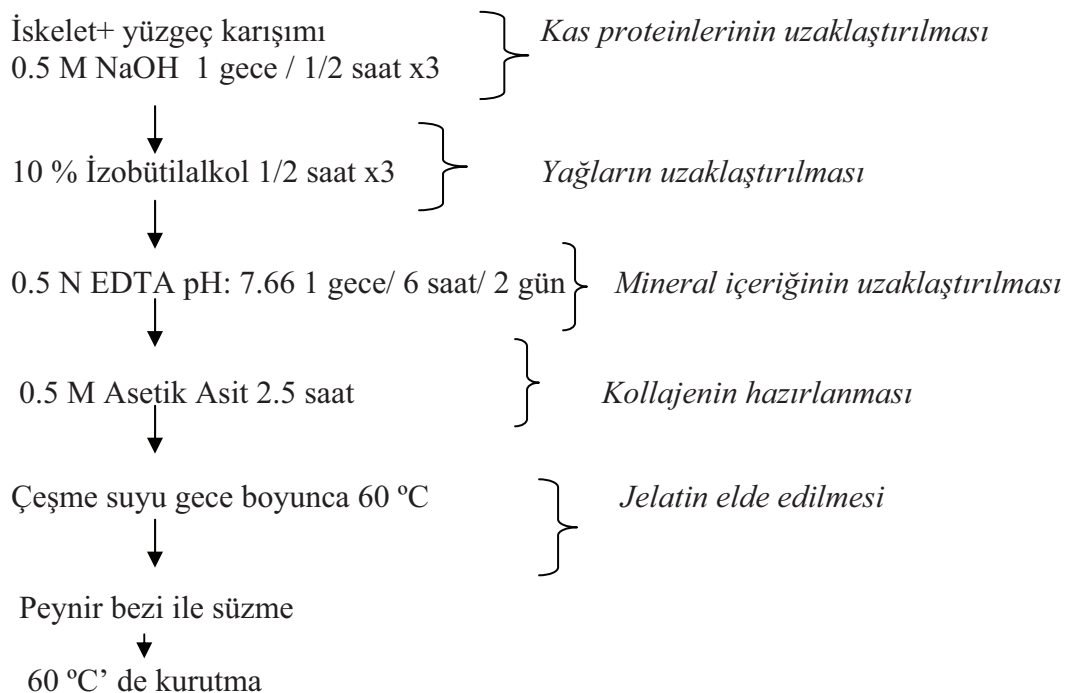
Kas proteinlerini uzaklaştırmak amacıyla iskelet ve yüzgeç karışımı 0.5 M NaOH çözeltisinde bir gece süre ile çalkalayıcıda ( model HS 501 digital, IKA Werke GmbH&Co., Staufen, Germany) sallanarak oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ertesi gün iskelet ve yüzgeç karışımı bolca akan çeşme suyunda iyice yıkanmış ve yarım saat süre ile aynı işlem bu kez karıştırıcıda (model RW 20 Janke&Kunkel, IKA Werke GmbH&Co., Staufen, Germany) karıştırılarak tekrar edilmiştir.



Yağları uzaklaştırmak için % 10'luk izobütilalkol 1/4 (w/v) oranında iskelet ve yüzgeç karışımı/izobütilalkol çözeltisi çalkalayıcıda (mod. HS 501 digital, IKA Werke GmbH&Co. KG, Staufen, Germany) sallanır bir şekilde 30 dk süre ile kullanılmıştır. Aynı işlem birbiri ardına üç kez tekrar edilmiştir. Çözeltinin değiştirilmesinde her seferinde bolca akan musluk suyuyla iskelet ve yüzgeç karışımı iyice yıkanmıştır. Bu üç işlem oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Mineral içeriğinin uzaklaştırılması amacıyla 0.5 N EDTA ( pH: 7.66) 1/4 iskelet ve yüzgeç karışımı/EDTA çözeltisi oranında kullanılmıştır. İskelet ve yüzgeç karışımı EDTA çözeltisinde bir gün süre ile çalkalayıcı (mod. HS 501 digital, IKA Werke GmbH&Co. KG, Staufen, Germany) ile sallanır bir şekilde oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda iskelet ve yüzgeç karışımı EDTA çözeltisinden alınmış, bolca akan musluk suyuyla iyice yıkanmış ve EDTA( pH: 7.66) 1/4 iskelet ve yüzgeç karışımı/EDTA çözeltisi oranında eklenerek iki gün daha buzdolabında, hareketsiz bir şekilde bekletilmiştir. Mineral içeriğinin uzaklaştırılması aşamasından sonra iskelet ve yüzgeç karışımı yıkanmış ve 0.5 M asetik asit çözeltisi 1/3 (w/v) iskelet ve yüzgeç karışımı/Asetik asit çözeltisi oranında 2.5 saat süresince oda sıcaklığında hareketsiz bir şekilde bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda iskelet ve yüzgeç karışımı yıkanmış ve 1/3 (w/v) iskelet ve yüzgeç karışımı/çeşme suyu oranında çeşme suyu eklenerek 60 °C'deki hava kuvvetli fırına (ED 240 Binder, Tuttlingen, Germany) 7 saat süre ile konulmuştur. Bu 7 saatin sonunda çözelti peynir bezi olarak adlandırılan bezle süzümüştür. Süzülen ürün 60 °C'deki hava kuvvetli fırında (ED 240 Binder, Tuttlingen, Germany) kurumaya bırakılmıştır. Aynı işlem üçüncü süzümü ürünü tamamen kuruyuncaya kadar tekrar edilmiştir.

Çizelge 2.3 İskelet ve yüzgeçlerden NaOH kullanılarak jelatin elde etme şeması



## 2.5. Çipura pullarından jelatin elde edilmesi

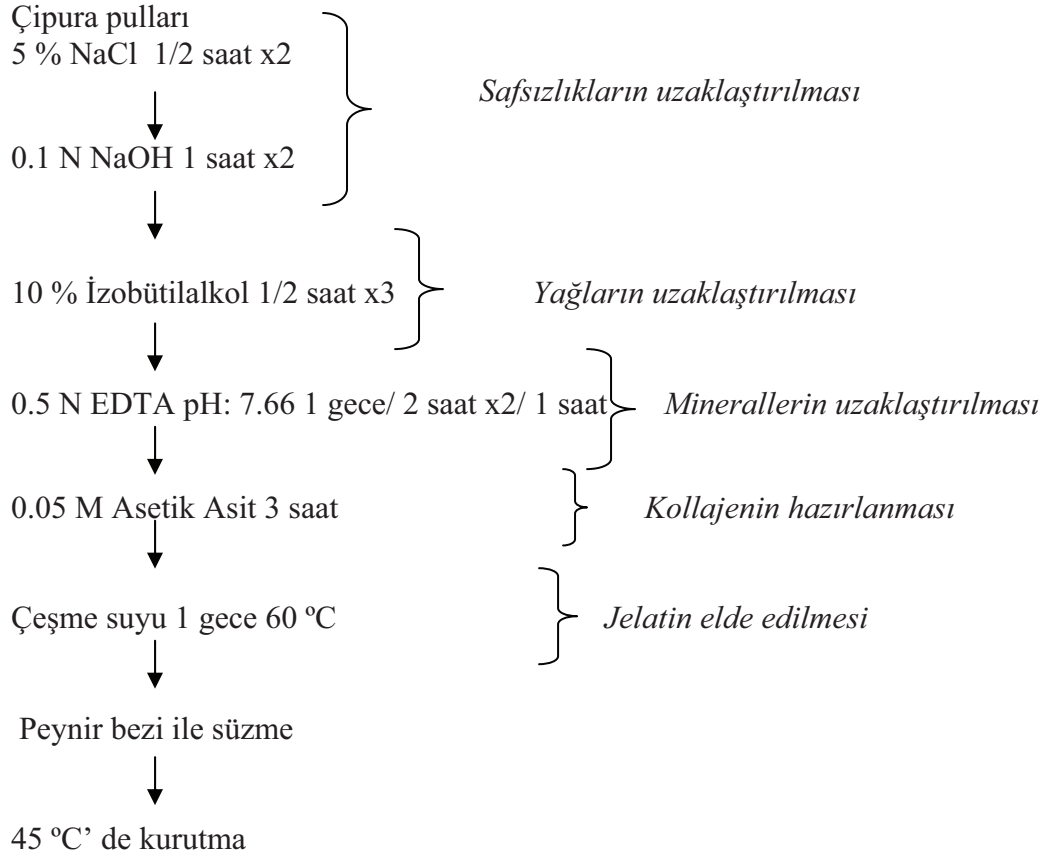
Çipura pullarının içerdiği kan, iç organ parçacıkları ve balık dışkısı gibi istenmeyen maddeleri uzaklaştırmak amacıyla % 5'lik NaCl çözeltisi ve 0.1 N NaOH çözeltisi kullanılmıştır. % 5'lik NaCl çözeltisi yarım saat süre ile çalkalayıcı (mod. HS 501 digital, IKA Werke GmbH&Co. KG, Staufen, Germany) ile sallanır bir şekilde oda sıcaklığında uygulanmıştır. İşlemden sonra çipura pulları bolca akan çeşme suyunda iyice yıkanmış ve aynı işlem bir kez daha tekrar edilmiştir. Daha sonra 0.1 N NaOH çözeltisi oda sıcaklığında bir saat süre ile çalkalayıcı (mod. HS 501 digital, IKA Werke GmbH&Co. KG, Staufen, Germany) ile sallanır bir şekilde uygulanmıştır. Bu sürenin sonunda çipura pulları bolca akan çeşme suyunda iyice yıkanmış ve aynı işlem bir kez daha tekrar edilmiştir.

Yağları uzaklaştırmak için % 10'luk izobütilalkol 1/4 (w/v) oranında çipura pulu/izobütilalkol çözeltisi çalkalayıcıda (mod. HS 501 digital, IKA Werke GmbH&Co. KG, Staufen, Germany) sallanır bir şekilde 30 dk süre ile kullanılmıştır. Aynı işlem birbiri ardına üç kez tekrar edilmiştir. Çözeltinin değiştirilmesinde her seferinde bolca akan musluk suyuyla çipura pulları iyice yıkanmıştır. Bu üç işlem oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Mineral içeriğinin uzaklaştırılması amacıyla 0.5 N EDTA ( pH: 7.66) 1/4 çipura pulu/EDTA çözeltisi oranında kullanılmıştır. Çipura pulları 0.5 N EDTA (pH: 7.66) çözeltisinde bir gece süre ile çalkalayıcı (mod. HS 501 digital, IKA Werke GmbH&Co. KG, Staufen, Germany) ile sallanır bir şekilde oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ertesi gün aynı işlem iki saat süre ile yapılmıştır. Sürenin sonunda çipura pulları bolca akan musluk suyunda iyice yıkanmış ve aynı işlem bir kez daha tekrar edilmiştir. Daha sonra çipura pulları bir saat süre ile tekrar çalkalayıcı (mod. HS 501 digital, IKA Werke GmbH&Co. KG, Staufen, Germany) ile sallanır bir şekilde 0.5 N EDTA ( pH: 7.66) çözeltisinde oda sıcaklığında bekletilmiş ve sürenin sonunda bolca akan musluk suyunda iyice yıkanmıştır.

Mineral içeriğinin uzaklaştırılması aşamasından sonra çipura pulları 0.05 M Asetik asit çözeltisi 1/3 (w/v) çipura pulu/Asetik asit çözeltisi oranında 3 saat süresince oda sıcaklığında hareketsiz bir şekilde bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda çipura pulları çok dikkatli bir şekilde yıkanmış ve 1/3 (w/v) çipura pulu/çeşme suyu oranında çeşme suyu eklenerek 60 °C'deki hava kuvvetli fırına (ED 240 Binder, Tuttlingen, Germany) 8 saat süre ile konulmuştur. Bu 8 saatin sonunda çözelti peynir bezi olarak adlandırılan bezle süzülmüştür. Süzülen ürün 45 °C'deki hava kuvvetli fırında (ED 240 Binder, Tuttlingen, Germany) kurumaya bırakılmıştır. Aynı işlem üçüncü süzüntü ürünü tamamen kuruyuncaya kadar tekrar edilmiştir.

Çizelge 2.4 Çipura pullarından NaCl ve NaOH kullanılarak jelatin elde etme şeması



## 2.6. Pullardan elde edilen jelatinden film oluşturulması ve formülasyonu

Jelatin ( film oluşturma çözeltisinin içinde son yoğunluğu 4 gr / 100 ml) ilk olarak distile suda 40 °C' ye ısıtılarak ve çalkalanarak tamamen çözündürülmüştür. Thomazin ve ark, (2005), çalışmalarında rapor ettikleri gibi sorbitol ( 0.15 gr / gr jelatin) ve gliserol ( 0.15 gr / gr jelatin) karışımı oranında plastikleştirici olarak eklenmiştir. Filmler 12\*12' lik kare plakalara 40 ml film çözeltisi dökülerek hazırlanmış ve daha sonra 45 °C'deki hava kuvvetli fırında (ED 240 Binder, Tuttlingen, Germany) 15 saat boyunca plakaların her yerinde aynı kalınlığı (~ 100 mm) elde etmek amacıyla kurumaya bırakılmıştır. Filmler, özelliklerinin belirlenmesinden önce, aşırı doymuş NaBr çözeltisi içeren desikatörde (% 58 nisbi nem) 22°C'de 2 gün süre ile uygun duruma gelmeleri için bekletilmişlerdir.

## 2.7. Pullardan elde edilen jelatininden karotenoid konsantresi eklenerek film oluşturulması ve formülasyonu

Yukarıdaki işlemlere ek olarak, plastikleştiricilerin iyice film çözeltisine karıştırılmasından sonra karotenoid konsantresi 1/1 (çözünmüş jelatin : karotenoid

konsantresi) oranında eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Film oluşturulması işlemi için yukarıdaki aşamalar aynı şekilde tekrar edilmiştir.

## 2.8. Çalışmada Elde Edilen Jelatinlerin Özelliklerinin Belirlenmesi

Çalışmada bir tanesi çipura pullarından, üç tanesi çipura iskelet ve yüzgeçlerinden olmak üzere dört ayrı işlemle jelatin elde edilmiştir. Çipura iskelet ve yüzgeç karışımından NaOH çözeltisi ile kas proteinlerinin uzaklaştırılması yöntemiyle elde edilen jelatinin rengi ve yağ gibi istenmeyen maddeleri fazlaca içermesinden dolayı, bu yöntemle elde edilen jelatin özelliklerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmayıp ıskarta edilmiştir.

### 2.8.1. Jel dayanımı

Jel dayanımı ölçümleri Gómez-Guillén *et al.* (2002), de belirttikleri yöntemle yapılmıştır. % 6.67 (w/v) oranında jelatin saf su ile 45 °C' ye ısıtılarak tamamen çözdürülmüştür. Bu çözeltiden 10 ml alınarak 2.3 cm çapı olan plastik silindirik kaplara ve 2.8 cm yüksekliğinde konarak buzdolabında 7 °C' de 16 ila 18 saat süresince bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda örneklerin teksturometre (model TA.XT. Exponent Stable Micro Systems, Godalming, Surrey ,UK) ile ölçümleri yapılmıştır. Ölçümler için 5 kg'lık yük birimi kullanılmış, çapraz tutacakların hızı 1 mm/sn olarak ayarlanmış ve 5 mm çapında paslanmaz çelikten yapılmış olan ucu silindir şekilli çubuk benzeri aparat kullanılmıştır. Jel kuvveti en yüksek kuvvet olarak Newton (N) cinsinden ifade edilmiştir. 5 mm çapındaki çubuk 4 mm jelatin jelinin içine daldırılmış ve sonuçlar yapılan üç ölçümün ( $\pm$  standart sapmaları) ile gösterilmiştir.

### 2.8.2. FRAP analizleri

FRAP yöntemi ( Ferric Reducing Ability of Plasma ) Benzie and Strain (1996), daki çalışmalarında belirttikleri esaslara göre gerçekleştirilmiştir. Jelatinlerin (pullardan elde edilen jelatin (PJ), iskelet ve yüzgeç karışımından alkalaz çözeltisi kullanılarak elde edilen jelatin (İJ-A), iskelet ve yüzgeç karışımından HCl çözeltisi kullanılarak elde edilen jelatin (İJ-H)) demir iyonu düşürme kapasiteleri ölçülmüştür. Jelatinler (PJ, İJ-A, İJ-H) 20 mg jelatin/ml saf su oranında saf su ile 40 °C' ye ısıtılarak ve çalkalanarak tamamen çözdürülmüştür. FRAP yöntemi kompleks tripiridiltriazine (TPTZ)- Fe(II) oluşumu nedeniyle 37°C'de indirgeme ajanlarının varlığında absorbansın 595 nm'ye arttırılması temeline dayanmaktadır. Örneklerin ölçümleri için çözünmüş jelatin çözeltisinden 30 µl, 90 µl saf su ve 900 µl FRAP reaktifi plastik küvetlere konulmuştur. Kontrol ölçümleri için çözünmüş jelatin çözeltisi yerine aynı miktarda saf su kullanılmış ve ölçümleri yapmadan önce örnek ve kontrollerden oluşan küvetler 37°C'de 30 dakika bekletilmiş daha sonra UV-1601 spektrofotometre (Model CPS-240, Shimadzu, Kyoto, Japan) ile absorbansları ölçülmüştür. Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O ile standart eğrisi elde edilmiştir. Standart eğrisi Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (mM) konsantrasyonunda 595 nm de ölçümler yapılarak elde

edilmiştir. Sonuçlar  $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (mM) eşdeğer/örnek gr olarak ifade edilmiştir. Bütün ölçümler en az üç kez tekrarlanmıştır.

### 2.8.3. ABTS analizleri

Jelatinlerin (pullardan elde edilen jelatin (PJ), iskelet ve yüzgeç karışımından alkalaz çözeltisi kullanılarak elde edilen jelatin (İJ-A), iskelet ve yüzgeç karışımından HCl çözeltisi kullanılarak elde edilen jelatin (İJ-H)) ABTS (2.20-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) radikal temizleme kapasiteleri Re et al. (1999) uyguladıkları metodun biraz değiştirilmesi suretiyle gerçekleştirilmiştir. ABTS radikalinin stok çözeltisi 7mM ABTS' nin 2.45 mM  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  ile karıştırılarak oda sıcaklığında 16 saat boyunca karanlıkta bekletilmesi suretiyle hazırlanmıştır. ABTS radikalinin stok çözeltisi, çalışma çözeltisi elde etmek amacıyla saf su ile 734 nm de  $0.70 \pm 0.02$  değeri elde edilinceye kadar sulandırılmıştır. Jelatinler (PJ, İJ-A, İJ-H) 20 mg jelatin/ml saf su oranında saf su ile 40 °C' ye ısıtılarak ve çalkalanarak tamamen çözdürülmüştür. Örneklerin ölçümleri için çözünmüş jelatin çözeltisinden 20 µl ve ABTS radikalinin çalışma çözeltisinden 980 µl olacak şekilde plastik küvetlere konulmuştur. Kontrol ölçümleri için çözünmüş jelatin çözeltisi yerine aynı miktarda saf su kullanılmış ve ölçümleri yapmadan önce örnek ve kontrollerden oluşan küvetler 30 °C' de 10 dakika bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda UV-1601 spektrofotometre (Model CPS-240, Shimadzu, Kyoto, Japan) ile 734 nm'de absorbanları ölçülmüştür. Standart eğrisi C vitamini konsantrasyonun ilişkisine dayanarak yapılmıştır. Antioksidan kapasitesi mg C vitamininin eşdeğer antioksidan kapasitesi (VCEAC)/örneğin gr cinsinden miktarı şeklinde ifade edilmiştir. Bütün ölçümler en az üç kez tekrarlanmıştır.

### 2.8.4. Nem içeriği

Jelatinlerin (pullardan elde edilen jelatin (PJ), iskelet ve yüzgeç karışımından alkalaz çözeltisi kullanılarak elde edilen jelatin (İJ-A), iskelet ve yüzgeç karışımından HCl çözeltisi kullanılarak elde edilen jelatin (İJ-H)) nem içeriğinin tayin edilmesi amacıyla her jelatin örneğinden 1,0000 gr olacak şekilde tartılmış ve ağırlıkları tartılmış ve buna göre numaralandırılmış alüminyum kapsüllere konulmuştur. Jelatinleri içeren kapsüller yaklaşık 16 saat boyunca 105 °C' deki fırına konulmuştur. Bu sürenin sonunda kapsüller fırından çıkarılarak silika içeren desikatörde oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletilmişlerdir. Oda sıcaklığına ulaşan kapsüller tartılmış ve jelatin örneklerinin nem içerikleri fırında kurutmadan önceki ve sonraki ağırlıklar dikkate alınarak hesaplanmıştır. Sonuçlar % olarak ifade edilmiştir.

$$\% \text{ Nem} = \text{Toplam ağırlık} - \text{Toplam kuru ağırlık} * 100$$

## 2.9. Filmlerin Özelliklerinin Belirlenmesi

### 2.9.1. Film kalınlığı

Filmlerin kalınlığı mikrometre ile ölçülmüştür (Mitutoyo, Digimatic Micrometer No: 293-521-30, Mitutoyo Corporation, Japan). Kalınlık saptanması için 3 film örneği kullanılmış ve her filmin rastgele 5 noktasından ölçümü yapılmıştır. Sonuçlar mm cinsinden ifade edilmiştir.

### 2.9.2. Renk ölçümleri

Filmlerin renk ölçümleri L\*, a\*, b\* modları açısından renk ölçer (Konica Minolta CM- 3500 d , Konica Minolta Spectrophotometer, Japan) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar üç örnek ölçülmesi ile ifade edilmiştir.

### 2.9.3. Şeffaflık

Şeffaflık ölçümleri için filmler plastik küvetlerin ışık geçecek kenar duvarı boyutunda kesilerek küvetlere yerleştirilmiş ve UV-1601 spektrofotometre (Model CPS-240, Shimadzu, Kyoto, Japan) ile referans odacığına boş küvet konularak 600 nm' de ölçümleri yapılmıştır. Filmlerin şeffaflık değerleri aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır.

$$O = \text{Abs}_{600} / X$$

O: Şeffaflık

Abs 600: 600 nm' deki absorbans değeri

X: Film kalınlığı (mm)

### 2.9.4. Mekanik Özellikler

#### 2.9.4.1. Delme testi

Delme testi filmin kırıldığı noktadaki maksimum kuvvetin tanımlanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Test edilecek film 10 cm<sup>2</sup> boyutunda, merkezinde 3.5 cm çapında delik olan iki tane paslanmaz çelik plakanın arasına sabitlenmiş ve delinme noktası teksturometre (model TA.XT. Exponenet Stable Micro Systems, Godalming, Surrey ,UK) kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler için 5 kg'lık yük birimi kullanılmış, çapraz tutacakların hızı 60 mm/dk olarak ayarlanmış ve 5 mm çapında paslanmaz çelikten yapılmış olan ucu silindirik şekilli çubuk benzeri aparat kullanılmıştır. Delinme noktası en yüksek kuvvet olarak N cinsinden ifade edilmiştir. Her film örneği için üç ayrı test gerçekleştirilmiş ve sonuçlar yapılan üç ölçümün ( $\pm$  standart sapmaları) ile gösterilmiştir.

### **2.9.4.2. Gerilme testi**

Gerilme testi filmin koptuğu andaki en yüksek kuvvetin tanımlanması ile gerçekleştirilmiştir. Filmler 5 cm uzunluğunda ve 2 cm genişliğinde kesilerek alttan ve üstten 1.5 cm'den işaretlenmiş ve aletin tutacaklarına sabitlenmiştir. Başlangıçtaki film uzunluğu bu şekilde 2 cm olarak elde edilmiştir. Teksturometre (model TA.XT. Exponenet Stable Micro Systems, Godalming, Surrey,UK) kullanılarak 5 kg'lık yük birimi ve çapraz tutacakların hızı 1,7 mm/sn olacak şekilde ölçülmüştür. Her film örneği için üç ayrı test gerçekleştirilmiş ve sonuçlar yapılan üç ölçümün ( $\pm$  standart sapmaları) ile gösterilmiştir.

### **2.9.5. FRAP analizleri**

FRAP yöntemi (Ferric Reducing Ability of Plasma) Benzie ve Strain (1996), daki çalışmalarında belirttikleri esaslara göre gerçekleştirilmiştir. Filmlerin (pul jelatininden elde edilen film (PF) ve karotenoid konsantresi ile zenginleştirilmiş film (PCF)) demir iyonu düşürme kapasiteleri ölçülmüştür. Film örnekleri 15 mg film/ml saf su oranında hazırlanmış ve 16 saat boyunca bekletilmiştir. Filmlerin ölçümleri için suda çözünmüş olan film örnekleri kullanılmıştır. FRAP yöntemi kompleks tripiridiltriazine (TPTZ)- Fe(II) oluşumu nedeniyle 37°C'de indirgeme ajanlarının varlığında absorbansın 595 nm'ye artırılması temeline dayanmaktadır. Örneklerin ölçümleri için film örneklerinden 30  $\mu$ l, 90  $\mu$ l saf su ve 900  $\mu$ l FRAP reaktifi plastik küvetlere konulmuştur. Kontrol ölçümleri için film örneği yerine aynı miktarda saf su kullanılmış ve ölçümleri yapmadan önce örnek ve kontrollerden oluşan küvetler 37°C'de 30 dakika bekletilmiş daha sonra UV-1601 spektrofotometre (Model CPS-240, Shimadzu, Kyoto, Japan) ile absorbansları ölçülmüştür. Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O ile standart eğrisi elde edilmiştir. Standart eğrisi Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (mM) konsantrasyonunda 595 nm' de ölçümler yapılarak elde edilmiştir. Sonuçlar Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (mM) eşdeğer/örnek gr olarak ifade edilmiştir. Bütün ölçümler en az üç kez tekrarlanmıştır.

### **2.9.6. ABTS analizleri**

Filmlerin (pul jelatininden elde edilen film (PF) ve karotenoid konsantresi ile zenginleştirilmiş film (PCF)) ABTS (2.20-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) radikal temizleme kapasiteleri Re ve ark.,. (1999) uyguladıkları metodun biraz değiştirilmesi suretiyle gerçekleştirilmiştir. ABTS radikalinin stok çözeltisi 7mM ABTS' nin 2.45 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> ile karıştırılarak oda sıcaklığında 16 saat boyunca karanlıkta bekletilmesi suretiyle hazırlanmıştır. ABTS radikalinin stok çözeltisi, çalışma çözeltisi elde etmek amacıyla saf su ile 734 nm de 0.70  $\pm$  0.02 değeri elde edilinceye kadar sulandırılmıştır. Filmler (PF,PCF) 15 mg film/ml saf su oranında hazırlanmış ve 16 saat boyunca bekletilmiştir. Filmlerin ölçümleri için suda çözünmüş olan film örnekleri kullanılmıştır. Örneklerin ölçümleri için film örneklerinden 20  $\mu$ l ve ABTS radikalinin çalışma çözeltisinden 980  $\mu$ l olacak şekilde plastik küvetlere konulmuştur. Kontrol ölçümleri için film örnekleri yerine aynı miktarda saf su kullanılmış ve ölçümleri yapmadan önce örnek ve kontrollerden oluşan küvetler 30 °C' de 10 dakika bekletilmişlerdir. Bu sürenin sonunda UV-1601 spektrofotometre (Model CPS-240, Shimadzu, Kyoto,

Japan) ile 734 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Standart eğrisi C vitamini konsantrasyonunun ilişkisine dayanarak yapılmıştır. Antioksidan kapasitesi mg C vitamininin eşdeğer antioksidan kapasitesi (VCEAC) / örneğin gr cinsinden miktarı şeklinde ifade edilmiştir. Bütün ölçümler en az üç kez tekrarlanmıştır.

### 2.9.7. Su buharı geçirgenliği

Su buharı geçirgenliği Sobral ve ark. (2001) tarafından tanımlanan metoda göre gerçekleştirilmiştir. Yüzey alanı 10.75 cm<sup>2</sup> olan plastik kaplara 10 gr silika konulmuştur. Filmler silika içeren plastik kaplara parafin bantla sabitlenmiş ve 22 °C' de saf su içeren desikatöre konulmuşlardır. Filmlerin sarılı olduğu ve silika içeren kaplar ilk 6. saate kadar her saat başı ve 24. saatlerde tartılmışlardır. Su buharı geçirgenliği aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır. Sonuçlar gmmh<sup>-1</sup>cm<sup>-2</sup> Pa<sup>-1</sup> olarak ifade edilmiştir. Bütün testler üç kez tekrar edilmiştir.

$$WVP = wxt^{-1} \cdot A^{-1} \cdot DP^{-1}$$

w: kazanılan ağırlık (g)

x: film kalınlığı (mm)

t: geçen süre (saat)

A: geçirgenlik alanı ( cm<sup>2</sup>)

DP: kuru atmosfer ve saf su arasındaki kısmi su buharı basınç farkı ( 22 °C'de 2642 Pa) Sobral ve ark. (2001) .

### 2.9.8. Suda çözünürlük

Filmler çapları 3.7 cm olacak şekilde kesilmiş ve ağırlığı bilinen alüminyum kapsüllere konularak tartılmış ve 40 ml saf su eklenerek 22 °C' de 16 saat boyunca bekletilmişlerdir. Sonra çözelti Whatman no.1 süzgeç kağıdı (Whatman International Ltd., Maidstone, UK) ile çözünmeden kalan filmleri toplamak amacıyla süzölmüştür. Süzgeç kağıtları alüminyum kapsüllere konarak 105 °C' deki fırında 24 saat süre ile kurumaya bırakılmışlardır. Film çözünürlüğü aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$FS (\%) = (( W0 - Wf) / W0) * 100$$

W0: Filmin başlangıçtaki ağırlığı

Wf: Kurutma işleminden sonra geri kalan çözünmemiş filmin ağırlığı

Sonuçlar % olarak ifade edildi ve bütün testler üç kez tekrarlanmıştır.

### 2.9.9. Su aktivitesi

Su aktivitesi ölçümleri su aktivitesi test cihazı (Novasina AG. CH-8853 Lachen Labmaster – aW , Switzerland) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



### 3. BULGULAR

#### 3.1. Jelatinler

##### 3.1.1. Jelatin elde edilmesi

Çipura pullarından ve çipura iskelet ve yüzgeçlerinden elde edilen jelatinlerin verim oranları çizelge 3.1’ de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Farklı şekillerde elde edilen jelatinlerin verim oranları

VERİM ORANI	%
PJ	17,41
İJ-A	3,55
İJ-H	2,90
İJ-N	3,12

PJ: Çipura pullarından elde edilen jelatin.

İJ-A: Çipura iskelet ve yüzgeçlerinden kas proteinlerinin uzaklaştırılmasında alkalaz kullanılan yöntem ile elde edilen jelatin.

İJ-H: Çipura iskelet ve yüzgeçlerinden kas proteinlerinin uzaklaştırılmasında HCl kullanılan yöntem ile elde edilen jelatin.

İJ-N: Çipura iskelet ve yüzgeçlerinden kas proteinlerinin uzaklaştırılmasında NaOH kullanılan yöntem ile elde edilen jelatin.

##### 3.1.2. Jel dayanımı

Çizelge 3.2 Çalışmada elde edilen jelatinlerin jel dayanımı değerleri

Jel dayanımı	Kuvvet N
PJ	1.26308 ± 0.006
Sığır jelatini	1.05165 ± 0.04
İJ-A	0.81686 ± 0.0007
İJ-H	0.87328 ± 0.003

##### 3.1.3. FRAP analizleri

Bu çalışmada elde edilen jelatinlerin FRAP ölçümü değerleri Çizelge 3.3. ‘de verilmiştir.

Çizelge 3.3 Çalışmada elde edilen jelatinlerin FRAP ölçümü değerleri

	mmol Fe <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O/g
PJ	61.42401 ± 3.96
İJ-A	65.63939 ± 2.01
İJ-H	70.88204 ± 3.83

### 3.1.4. ABTS analizleri

Bu çalışmada elde ettiğimiz jelatinlerin ABTS ölçümü değerleri Çizelge 3.4' de verilmiştir.

Çizelge 3.4 Çalışmada elde edilen jelatinlerin ABTS ölçümü değerleri

	VCEAC mg/g
PJ	0.09602 ± 0.004
İJ-A	0.07235 ± 0.002
İJ-H	0.06006 ± 0.001

### 3.1.5. Nem içeriği

Çizelge 3.5 Çalışmada elde edilen jelatinlerin nem içeriği değerleri

	% Nem
PJ	10.3172
İJ-A	7.80760
İJ-H	6.87786

## 3.2. Filmler

### 3.2.1. Film kalınlığı

Film kalınlıkları ölçümleri Çizelge 3.6 'da verilmiştir.

Çizelge 3.6 Filmlerin kalınlık değerleri

ÖRNEK FİLM	FİLM KALINLIĞI mm
PF	0.108 ± 0.02
PCF	0.098 ± 0.005

### 3.2.2. Renk ölçümleri

Filmlerin renk ölçümlerinin sonuçları Çizelge 3.7' de verilmiştir.

Çizelge 3.7 Filmlerin renk ölçümü değerleri

ÖRNEK FİLM	L*	a*	B*
PF	34.61± 0.01	-0.53± 0.03	-1.06± 0.02
PCF	32.75 ± 0.11	0.683 ± 0.04	0.603 ± 0.03

### 3.2.3. Şeffaflık

Filmlerin şeffaflık değerleri Çizelge 3.8' de verilmiştir.

Çizelge 3.8 Filmlerin şeffaflık değerleri

ÖRNEK FİLM	KALINLIK	ŞEFFAFLIK
PF	0.0917 ± 0.0017	0.011 ± 0.01
PCF	0.098 ± 0.005	0.8943 ± 0.17

### 3.2.4. Mekanik özellikler

Filmlerin mekanik özelliklerini tayin etmek için yapılan testlerin sonuçları Çizelge 3.9' da verilmiştir.

Çizelge 3.9 Filmlerin mekanik özellikleri

ÖRNEK FİLM	FİLM KALINLIĞI	DELME TESTİ		GERİLME TESTİ	
		Mm	Kuvvet N	Mesafe mm	Kuvvet N
PF	0.108 ± 0.02	21.197 ± 3.86	23.66 ± 3.91	22.195 ± 0.87	28.785 ± 8.39
PCF	0.098 ± 0.005	11.65 ± 1.52	61.95 ± 1.4	14.394 ± 0.62	142.6292 ± 16.81

### 3.2.5. FRAP analizi

Sonuçlar Çizelge 3.10.' da verilmiştir.

Çizelge 3.10 Filmlerin FRAP ölçümü değerleri

ÖRNEK FİLM	mmol Fe <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O/g
PF	28.2323 ± 0.23
PCF	65.8086 ± 0.83

### 3.2.6. ABTS analizi

Filmlerin ABTS analiz ölçümü değerleri Çizelge 3.11'de verilmiştir.

Çizelge 3.11 Filmlerin ABTS ölçümü değerleri

ÖRNEK FİLM	ABTS VCEAC mg/g
PF	0.0269 ± 0.004
PCF	0.0375 ± 0.004

### 3.2.7. Su buharı geçirgenliği

Filmlerin su buharı geçirgenliği sonuçları  $\text{gmmh}^{-1}\text{cm}^{-2}\text{Pa}^{-1}$  cinsinden Çizelge 3.12' de verilmiştir.

Çizelge 3.12 Filmlerin su buharı geçirgenliği değerleri

ÖRNEK FİLM	$\text{gmmh}^{-1}\text{cm}^{-2}\text{Pa}^{-1}$
PF	1.46E-07 ± 3.26E-08
PCF	1.11E-07 ± 3.03E-08

### 3.2.8. Suda çözünlülük

Filmlerin suda çözünlülük değerleri % olarak Çizelge 3.13' de verilmiştir.

Çizelge 3.13 Filmlerin suda çözünlülük değerleri

ÖRNEK FİLM	ÇÖZÜNÜRLÜK %
PF	37.5943652 ± 4.8
PCF	50.81452 ± 4.15

### 3.2.9. Su aktivitesi

Filmlerin su aktivite değerleri Çizelge 3.14' de verilmiştir.

Çizelge 3.14 Filmlerin su aktivitesi değerleri

PF	0.478
PCF	0.471

#### 4. TARTIŞMA

Çipura pullarından ve çipura iskelet ve yüzgeçlerinden elde edilen jelatinlerin verim oranları arasında çok büyük farklılık saptanmıştır. Çipura pullarından % 17.41 oranında jelatin elde edilirken, çipura iskelet ve yüzgeçlerinden; kas proteinlerinin uzaklaştırılmasında alkalaz kullanılan yöntemde % 3.55 oranında jelatin elde edilmiştir, kas proteinlerinin uzaklaştırılmasında HCl kullanılan yöntemde % 2.90 oranında jelatin elde edilmiş, kas proteinlerinin uzaklaştırılmasında NaOH kullanılan yöntemde % 3.12 oranında jelatin (İJ-N) elde edilmiştir. Daha önceden de belirtildiği gibi bu yöntemle elde edilen jelatinin, içeriğindeki koyu renk pigmentleri ve istenmeyen maddeler nedeniyle özelliklerinin saptanması işlemleri gerçekleştirilmemiştir. Sonuçlar incelendiğinde en yüksek verim oranını çipura pullarından elde edilen jelatin vermiştir.

Jel dayanımı jelatin jelinin sertliğinin ölçülmesi olarak tanımlanmaktadır. Ürünlerin özel dokusunu direkt olarak etkileyen özelliklerden biridir (Wolf, 2003). Jel dayanımı ölçümlerinde karşılaştırma yapabilmek amacıyla bu çalışmada elde edilen jelatinlerin yanı sıra ticari sığır jelatini de kullanılmıştır. Yapılan karşılaştırmada çipura pullarından elde edilen jelatinin jel dayanımı değeri ticari sığır jelatinine ait değerin üzerinde bulunmuştur.

FRAP analizleri antioksidanların varlığında  $Fe^{+3}$  iyonunun  $Fe^{+2}$  iyonuna indirgenmesinin ölçülmesi esasına dayanır, bu analiz yöntemi sıklıkla singlet antioksidanların ve toplam antioksidan aktivitenin ölçümü için de kullanılmaktadır (Kim ve Lee, 2009).

Proteinlerin antioksidan aktivitesi reaktif oksijen türlerini inaktive etme, serbest radikal süpürme, prooksidatif geçiş metallerini şelatlama, hidroperoksitleri düşürme, özel oksidanları enzimatik olarak elimine etme ve reaktif türleri ayırma yoluyla besin sistemlerinin fiziksel özelliklerinin üstesinden gelme yetenekleri arasındaki karmaşık etkileşimler nedeniyledir. Diğer gıda antioksidanları ile karşılaştırıldığında potansiyel olarak çok fonksiyonlu antioksidanlar şeklinde hareket edebilmeleri bakımından proteinler oldukça eşsizdirler ki bir çok sayıda farklı lipid oksidasyonu yollarını inhibe edebilirler (Elias ve ark., 2008).

ABTS analizleri içeceklerin, sulu çözeltilerin ve saf maddelerin toplam antioksidan aktivitelerinin ölçümü için kullanılmakta olan spektrofotometrik metodların temelini oluşturmaktadır. Renkten arındırma şeklinde rapor edilen antioksidan aktivitenin izlenmesi için olan metod flavonoidler, hidroksinamatlar, karotenoidler ve plazma antioksidanlarını içeren hem lipofilik hemde hidrofilik antioksidanların ölçümlerinde uygulanabilmektedir (Kim ve Lee, 2009).

FRAP ve ABTS yöntemleri ile elde edilen antioksidan aktivitenin farklı olmasının nedeni sahip oldukları farklı reaksiyon mekanizmalarından kaynaklanabilmektedir. FRAP analiz yöntemi sadece tekli oksijen transfer mekanizması ile hareket eden bileşenleri saptarken bunun aksine ABTS analiz

yöntemi hidrojen atomu transfer mekanizması aracılığıyla ya direkt elektron transferinin düşürülmesi aracılığıyla ya da radikal sönmleme şeklinde hareket eden bileşenleri saptamak için kullanılmaktadır (Kim ve Lee, 2009).

Yapılan ölçümlerde elde ettiğimiz jelatinlerin antioksidan aktiviteye sahip oldukları sonucuna varılmıştır.

Jelatinin nem içeriği % 16 kadar yüksek olabilir fakat %10 - %13 daha normal olarak kabul edilir (Francis, 2000). Çipura pullarından elde edilen jelatin % 10 nem içeriğine sahip olması nedeniyle kabul edilebilir değere sahip bulunmuştur.

Yapılan ölçümlerde film kalınlığının bütün yüzeyde 0.1 mm civarında olması amaçlanmıştır. Filmin yüzeye % 100 homojen dağılamaması nedeniyle 0.1 mm' ye yakın değişik değerler elde edilmiştir.

Filmlerin renk ölçümü analizine bakıldığında, L\* değeri 0: siyah 100:aydınlık, a\* değeri 60: kırmızı -60: yeşil, b\* değeri ise 60: sarı -60: mavi renge işaret etmektedir. Karotenoid konsantresi içeren filmde a değeri çok az miktarda yüksek bulunmuştur.

Çipura pullarından elde edilen jelatinle üretilen filmin tamamen şeffaf olduğu gözlemlenmiş, karotenoid konsantresi içeren kompozit filmin düşük şeffalık göstermiştir. Bu sonuç beklendiği gibi filmin içerdiği renk maddeleri ve diğer bileşenlerden kaynaklanmaktadır.

Karotenoid konsantresi içeren kompozit film örneğinin mekanik özelliklerinin tayin edilmesi için yapılan test sonuçlarına bakıldığında diğer film örneği ile arasındaki fark, karotenoid konsantresi bir miktar protein ve yağ içerdiğinden ötürü bu maddelerin plastikleştirici gibi davranmış olabileceği düşünülmektedir.

Plastikleştiriciler her zaman mekanik özelliklerin ölçümünde kuvveti düşürerek mesafeyi arttırlar. Aynı zamanda filmin çapraz bağ miktarı arttıkça delme direncinin azaldığı, gerilme direncinin arttığı da bilinir. Filmin yaşlanması ile birlikte çapraz bağ miktarı da azalmaktadır.

Proteinlerin sahip oldukları antioksidan özellikleri nedeniyle çipura jelatininden üretilen film düşük antioksidan aktivite göstermektedir. Beklenildiği gibi karotenoid konsantresi içeren film diğer filme oranla daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir.

Filmlerin su buharı geçirgenliği değerleri karşılaştırıldığında çok az fark bulunmuştur. Balık jelatininden elde edilen filmler sığır jelatininden elde edilen filmlere oranla daha düşük su buharı geçirgenliği değeri sergilemektedir. Bu daha düşük su buharı geçirgenliği değeri ( sığır veya domuz jelatinlerinden elde edilen filmler ile kıyaslandığında) jelatinlerin amino asit kompozisyonları açısından

açıklanabilir: daha düşük prolin ve hidroksiprolin içeriği nedeniyle, hidroksiprolinin hidroksil grubu normal olarak su ile hidrojen bağları oluşturma yeteneğinde olduğu için balık jelatininin çok daha yüksek hidrofobikliğe sahip olduğu bilinmektedir (Avena-Bustillos ve ark., 2006; Karim ve Bhat, 2009).

Plastikleştiriciler su içerdikleri için genellikle filmin su buharı geçirgenliğini arttırlar. Plastikleştirici miktarının, sıcaklığın ve nispi nemin artması genellikle su buharı geçirgenliğini arttırır (Krochta, 2002).

Karotenoid konsantresi içeren filmin suda çözünürlüğünün içermeyen filme oranla nispeten daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Karotenoid konsantresi ile zenginleştirilmiş olan filmin daha yüksek çözünürlüğünün olması karotenoid konsantresinin içerisinde bir miktar protein, yağ ve aynı zamanda su bulmasından dolayı bu filmin karotenoid konsantresi içermeyen filme oranla yarısı miktarında jelatin içermesinden ötürü daha az sıkı bir yapıda olması ile açıklanabilir.

Zamanla, yaşlanmaya bağlı olarak film daha az çözünürlük gösterir. İlk zamanlarında film çok sayıda çapraz bağ içerir, zamanla çapraz bağ miktarı azalır.

Su aktivitesi test sonuçlarına bakıldığında değerler birbirlerine oldukça yakın bulunmuştur. Her iki sonuca da bakıldığında pek çok bozulma yapan bakteri ve küflerin ve aynı zamanda gıda zehirlenmelerine neden olan bakterilerin gelişebilecekleri su aktivite değerlerinin (bozulma yapan bakteriler; 0.91, bozulma yapan küfler; 0.80, gıda zehirlenmelerine neden olan bakteriler; 0.86) çok altında oldukları gözlemlenmektedir.



## 5. SONUÇ

Ülkemiz su ürünleri yetiştiriciliği ve işleme sektörü geçtiğimiz on yıldan beri katlanarak artan hacimlerde üretime imza atmaktadır. Buna bağlı olarak su ürünleri işleme tesislerinin atık miktarları gün geçtikçe artmaktadır. Bu işletmelerden açığa çıkan atıklar günümüzde balık yemi üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır. Kapsamlı araştırma ve çalışmalar çerçevesinde bu atıkların daha fazla değere sahip yan ürünlere dönüştürülmesi mümkündür. Dünya’ da balıkçılık konusunda gelişmiş ülkelerin örneklerine bakıldığında biyoteknolojiden yararlanılarak birçok değerli bileşenlerin üretiminin gerçekleştirilmekte olduğu görülmektedir. Üç tarafı denizlerle çevrili olan ve iç kesimlerinde akarsulara ve göllere sahip olan ülkemizin su ürünleri yetiştiriciliği ve işleme konularında daha da büyüyerek gelişeceği göz önüne alındığında atık değerlendirme konularını daha kapsamlı incelemek önem arz etmektedir.

Çalışma sonuçları jelatinler açısından incelendiğinde çipura pullarından elde edilen jelatin gerek verim oranı, jel dayanımı ve nem içeriği değerlerinin uygun bulunması ve gerekse bu jelatinin üretiminin iskelet ve yüzgeç karışımlarından jelatin üretim aşamaları ile kıyaslandığında daha kolay olması nedeniyle ticari balık jelatini üretimi için bu çalışma kapsamında uygun bulunmuştur. Su ürünleri işleme sektöründen edindiğimiz bilgiler doğrultusunda ülkemizde balık jelatini üretimi için hammadde miktarının henüz yeterli miktarda olmadığı öğrenilmiştir. Gelecek yıllardaki artması muhtemel üretim ve satış kapasiteleri bu konuya yatırım yapılması olasılığını arttırmaktadır.

Çalışmada üretmiş olduğumuz filmler yapılan analizlerde iyi sonuçlar vermekte fakat suda çözünürlük özelliğinin fazla olması nedeniyle sulu ve nemli gıdaların kaplanması için uygun görünmemektedir. Film kompozisyonuna mum veya lipid eklenmesi suretiyle çözünürlük özelliği düşürülerek yeni kompozit filmlerin geliştirilmesi ve nemli ve sulu gıdalara uygulanması konusu çalışılmaya değer görülmektedir.

**KAYNAKLAR DİZİNİ**

**Adler-Nissen, J.**, 1985, Enzymic hydrolysis of food proteins, London and New York: Elsevier Applied Science Publishers Ltd.

**Arnesen, J.A. and Gildberg, A.**, 2006, Extraction of muscle proteins and gelatin from cod head. *Process Biochemistry*, 41, 697-700 pp.

**Arvanitoyannis, I.S.**, 2002, Formation and properties of collagen and gelatin films and coatings, *Protein- Based Films and Coatings*, Florida, 11, 275-304 pp.

**Avena-Bustillos, R.J., Olsen, C.W., Chiou, B., Yee, E., Bechtel, P.J. and McHugh, T.H.**, 2006, Water vapor permeability of mammalian and fish gelatin films, *Journal of Food Science*, 71, E202-E207 pp.

**Bailan, G. and Bowes, J.H.**, 1977, In: The science and technology of gelatin (G.A. Ward and A. Courts, eds.), *London Academic Press*, 1-27 pp.

**Bateman, J.F., Lamandé, S.R. and Ramshaw, J.A.M.**, 1996, In: W.D. Comper (ed.), *Extracellular matrix*, Amsterdam, 2, 22-67 pp.

**Bender, A.E., Miller, D.S. and Elizabeth, J.T.**, 1953, The biological value of gelatin, *Chemistry and Industry*, 799 pp.

**Bernard, I. and Braswell, E.**, 1957, Gelatin, *Advance Food Research*, 235-338 pp.

**Benzie, I.F.F. and Strain, J.J.**, 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “ antioxidant power”: the FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76 pp.

**Burke, C.J., Hsu, T.A. and Volkin, D.B.**, 1999, Formulation, stability, and delivery of live attenuated vaccines for human use, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 16, 1-83 pp.

**Charley, H.**, 1992, *In Food Science 2nd ed.*, New Jersey: Prentice-Hall, 443-447 pp.

**Cho, S.M., Kwak, K.S., Park, D.C., Gu, Y.S., Ji, C.I. and Jang, D.H.**, 2004, Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage, *Food Hydrocolloids*, 18, 573-579 pp.

**Choi, S.S. and Regenstein, J.M.**, 2000, Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin, *Journal of Food Science*, 65, 194-199 pp.

### KAYNAKLAR DİZİNİ ( devam )

**Choudhury, G.S. and Gogoi, B.K.**, 1995, Extrusion processing of fish muscle. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 4, 37-67 pp.

**Choudhury, G.S. and Bublitz, C.G.**, 1996, Computer based controls in fish processing industry. In G.S. Mittal (Ed.), *Computerised Control Systems in The Food Industry*, New York: Marcel Dekker Inc., 513-538 pp.

**Djabourov, M., Lechaire, J. and Gaill, F.**, 1993, Structure and rheology of gelatin and collagen gels, *Biorheology*, 30, 191-205 pp.

**Djagny, K.B., Wang, Z. and Xu, S.**, 2001, Gelatin: A valuable protein for food and pharmaceutical industries: rewiev, *Critical Rewievs in Food Science and Nutrition*, 41 (6), Wuxi, 481-492 pp.

**Eastoe, J.E. and Leach, A.A.**, 1977, Chemical constitution of gelatin, In A.G. Ward, & A. Courts (Eds.), *The science and technology of gelatin*. New York: Academic Press, 73-107 pp.

**Elias, R.J., Kellerby, S.S. and Decker, E.A.**, 2008, Antioxidant activity of proteins and peptides, , *Critical Rewievs in Food Science and Nutrition*, 48 (5), Massachusetts, 430-441 pp.

**Eyre, D.R., Paz, M.A. and Gallop, P.M.**, 1984, *Annu. Rev. Biochem.*, 53, 717-748 pp.

**Finer, E.G., Franks, F., Philips, M.C. and Suggett, A.**, 1975, *Biopolymers*,14, 1995 p.

**Foegeding, E.A., Lanier, T.C. and Hultin, H.O.**, 1996, “Characteristics of edible muscle tissues”, *Food Chemistry*, New York, 879-942 pp.

**Francis, F.J.**, 2000, Gelatin, *Encyclopedia Food Science and Technology*, 2nd edition, 4, New York, 1183-1188 pp.

**GME**, 2008, Gelatin manufacturers of Europe. <http://www.gelatine.org/en/gelatine/overwiev/127.htm>. (Erişim Tarihi: 15.03.2008)

**Gómez-Guillén. M.C., Turnay, J., Fernández-Diaz., M.D., Ulmo, N., Lizarbe, M.A. and Montero, P.**, 2002, Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 16, Spain, 25-34 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ ( devam )**

**Gómez-Guillén, M.C., Ihl, M., Bifani, V., Silvia, A. and Montero, P.,** 2007, Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz), *Food Hydrocolloids*, 21, 1133-1143 pp.

**Grossman, S. and Bergman, M.,** 1992, Process for the production of gelatin from fish skins. US patent 5,093,474.

**Gudmundsdottir, A. and Palsdottir, H.M.,** 2005, Atlantic cod tripsins: From basic research to practical applications, *Marine Biotechnology*, 7, 77-88 pp.

**Gudmundsson, M. and Hafsteinsson, H.,** 1997, Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments, *Journal of Food Science*, 62, 37-47 pp.

**Hard, N.F., Simpson, B.K. and Sikorski, Z.E.,** 1994, Biotechnological applications of seafood proteins and other nitrogenous compounds. In "Seafood Proteins" (Z.E. Sikorski, B.S. Pan, and, F. Shahidi, eds), Chapman and Hall, New York, 194-216 pp.

**Haug, I.J., Draget, K.I. and Smidsrod, O.,** 2004, Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. *Food Hydrocolloids*, 18, 203-213 pp.

**Holzer, D.,** 1996, Gelatin production, US patent 5,484,888.

**Jamilah, B. and Harvinder, K.G.,** 2002, Properties of gelatins from skins of fish- black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*), *Food Chemistry*, 77, 81-84 pp.

**Je, J.Y., Park, P.J., Jung, W.K. and Kim, S.K.,** 2005, Isolation of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitor from fermented oyster sauce, *Crassostrea gigas*. *Food Chemistry*, 90, 809-814 pp.

**Jeon, Y.J. and Kim, S.K.,** 2002, Antitumor activity of chitosan oligosaccharides produced in an ultra filtration membrane reactor system. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12, 503-507 pp.

**Johnston-Banks, F.A.,** 1990, Gelatin, In P. Haris (ed.), Food Gels, New York: Elsevier Applied Sciences, 233-289 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ ( devam )**

**Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Prodpran, T. and Tanaka, M.,** 2006a, Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe red snapper and bigeye snapper, *Food Hydrocolloids*, 20, 492-501 pp.

**Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Tanaka, M.,** 2006b, Effect of plasticizers on the properties of edible films from skin gelatin of bigeye snapper and brownstripe red snapper, *European Food Research and Technology*, 222, 229-230 pp.

**Karim, A.A. and Bhat, R.,** 2009, Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins, *Food Hydrocolloids*, 23, Malaysia, 563-576 pp.

**Kasankala, L.M., Xue, Y., Weilong, Y., Hong, S.D. and He, Q.,** 2007, Optimization of gelatine extraction from grass carp fish skin by response surface methodology, *Bioresource Technology*, 98, 3338-3343 pp.

**Kelleher, K.,** 2005, Discards in the world's marine fisheries. *An update FAO Fisheries Technical Paper* N 470, Rome, 131p.

**Keller, R.C.A. and Wolf, F.A.,** 1998, Wiley Poly. Networks Group Rev. Ser. 107p.

**Kim, J.S. and Lee, Y.S.,** 2009, Antioxidant activity of maillard reaction products derived from aqueous glucose/glycine, diglycine and triglycine model systems as a function of heating time, *Food Chemistry*, 116, South Korea, 227-232 pp.

**Kim, S.K., Kim, Y.T., Byun, H.G., Nam, K.S., Joo, D.S. and Shahidi, F.,** 2001, Isolation and characterization of antioxidative peptides from gelatin hydrolysate of Allaska Pollack skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1984-1989 pp.

**Kim, S.K. and Mendis E.,** 2006, Bioactive compounds from marine processing byproducts – a review, *Food Research International*, 39, Korea, 383-393 pp.

**Kivirokko, K.I. and Prockop, D.J.,** 1995, *Annu. Rev. Biochem.*, 64, 403-434 pp.

**Krochta, J.M.,** 2002, Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities, *Protein- Based Films and Coatings*, 1, Florida, 1-41 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ ( devam )**

**Leuenberger, B.H.**, 1991, Investigation of viscosity and gelation properties of different mammalian and fish gelatins, *Food Hydrocolloids*, 5, 353-361 pp.

**Liu, H., Li, D. and Guo, S.**, 2008, Rheological properties of channel catfish gelatine from fish skins preserved by different methods, *LWT- Food Science and Technology*, 41, 414-419 pp.

**Loofbourow, J.R., Gould, B.S. and Sizer, I.W.**, 1949, Studies on the ultraviolet absorption spectra of collagen, *Arch. Biochem.*, 22, 406 p.

**Muyonga, J.H., Cole, C.G.B. and Duodu, K.G.**, 2004, Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin, *Food Hydrocolloids*, 18, 581-592 pp.

**Myllyharju, J. and Kivirokko, K.I.**, 2001, *Ann. Med.* 33, 7-21 pp.

**Norland, R.E.**, 1990, Fish gelatin, In “*Advances in Fisheries Technology and biotechnology for Increased Profitability*”(M.N. Voigt and J.R. Botta, eds). Technomic Publishing Co., Lancaster, PA, 325-333 pp.

**Okada, T. and Morrissey, M.T.**, 2007, Marine enzymes from seafood by-products. In “*Maximising the Value of Marine By-products*” (F. Shahidi, ed.), CRC Pres, LLC, Boca Raton, FL and Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 374-396 pp.

**Oshima, T.**, 1998, Recovery and use of nutraceutical products from marine resources, *Food Technology*, 52, 50-52 pp.

**Papon, P., Leblon, J. and Meijer, P.H.E.**, 2007, Gelatin and transitions in biopolymers, In *The Physics of Phase Transitions*, Berlin , Heidelberg, Springer, 189-213 pp.

**Pollack, S.V.**, 1990, Silicone, fibrel and collagen implantation for facial lines and wrinkles, *Journal of Dermatology ans Surgical Oncology*, 16, 957-961 pp.

**Rao, K.P.**, 1995, Recent developments collagen based materials for medical applications and drug delivery systems. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 7, 623-645 pp.

**Rasmussen, R.S. and Morissey M.T.**, 2007, Marine biotechnology for production of food ingredients, *Advances in Food and Nutritional Research*, 52, Oregon, 237-292 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ ( devam )**

**Re, R., Pellegrini, N., Protegente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice Evans, C.,** 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237 pp.

**Rustad, T.,** 2003, Utilization of marine by-products, *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2 (4), Norway, 458-463 pp.

**Saddler, J.M. and Horsey, P.J.,** 1987, The new generation gelatins. A review of history, manufacture and properties, *Anesthesia*, 42, 998-1004 pp.

**Salgues, J. and Bidan, P.,** 1984, Les agents de clarification et de stabilisation des boissons, In: *Additifs et Auxillaires de Fabrication dans les Industries Agroalimentaires*, Tec et Doc Lavoisier, 391 p.

**Schrieber, R. and Gareis, H.,** 2007, *Gelatine handbook*. Weinheim: Wiley-VCH GmbH&Co.

**Senaratne, L.S., Park, P.J. and Kim, S.K.,** 2006, Isolation and characterization of collagen from brown backed toadfish (*Lagocephalus gloveri*) skin, *Bioresource Technology*, 97, 191-197 pp.

**Shahidi, F.,** 1994, Proteins from seafood processing discards. In “ Seafood Proteins ( Z.E. Sikorski, B.S. Pan, and F. Shahidi, eds), Chapman And Hall, New York, 171-193 pp.

**Shahidi, F. and Janak Kamil, Y.V.A.,** 2001, Enzymes from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry. *Trends Food Science Technology*, 12, 435-464 pp.

**Sobral, P.J.A., Menegalli, F.C., Hubinger, M.D. and Roques, M.A.,** 2001, Mechanical, water vapour barrier and thermal properties of gelatin based edible films, *Food Hydrocolloids*, 15, Brazil, 423-432 pp.

**Suresh, P.V. and Chandrasekaran, M.,** 1998, Utilization of prawn waste for chitinase production by the marine fungus *Beauveria bassiana* by solid state fermentation. *World J. Microbiology Biotechnology*, 14, 655-660 pp.

**Thomazine, M., Carvalho, R.A. and Sobral, P.J.A.,** 2005, Physical properties of gelatin films plasticized by blends of glycerol and sorbitol, *Journal of Food Science*, 70, 172-176 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ ( devam )**

**UNEP**, 1999, *Industrial Sector Guide. Cleaner Production Assesment in Fish Processing Industry*. Danish Environmental Protection Agency in cooperation with COWI Consulting Engineering and Planners AS.

**Visvanathan, C.**, 2008, Seafood processing, *ED78.20 Industrial Waste Abatement and Management*, Term Project 2, Asian Institute of Technology, Thailand, 24 p.

**Wilesmith, J.W., Ryan, J.B.M. and Atkinson, M.J.**, 1991, Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies on the origin, *Veterinary Record*, 128, 199-203 pp.

**Wolf, F.A. and Keller, R.C.A.**, 1996, *Prog. Colloid Polym. Sci.* 102,9 p.

**Zhou, P., and Regenstein, J.M.**, 2004, Optimization of extraction conditions for pollock skin gelatin, *Journal of Food Science*, 69, C393-C398pp.

**Zhou, P., Mulvaney, S.J., and Regenstein, J.M.**, 2006, Propereties of Alaska pollock skin gelatin: a comparison with Tilapia and pork skin gelatins, *Journal of Food Science*, 71, C313-C321pp.

**Wolf, F.A.**, 2003, Collagen and gelatin, *Progress in Biotechnology*, 23, 133-218pp.



## ÖZGEÇMİŞ

Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı olan Özlem Yeşim Akagündüz, 01/12/1982 tarihinde İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini tamamladıktan sonra 2001 yılında E.Ü. Su Ürünleri Fakültesini kazandı. 2005- 2006 yıllarında Mimoza Su Ürünleri ve Akuadan Su Ürünlerinde stajlarını tamamladı. Adı geçen fakülteyi 2007 yılında bitirerek Su Ürünleri Mühendisi ünvanını aldı. Aynı yıl evlendi. Bir yıl sonra E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama İşleme Anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı.