

# TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

## PROJE DETAY RAPORU

TAKIM ADI

Enzim

PROJE ADI

Balık Atıklarından Biyoaktif Peptid Üretimi

BAŞVURU ID

#76806

KATEGORİ

2021 Biyoteknoloji İnovasyon Yarışması Proje Kategorisi Üniversite  
ve Üzeri Seviyesi

## 1. Proje Özeti (Proje Tanımı)

Vücudun temel yapı taşlarından olan proteinlerin eksikliğinde çeşitli hastalıkların ortaya çıkması muhtemeldir. Günümüzde birçok insan protein ihtiyacını, farklı kaynaklarla beraber protein tozu tüketimiyle de karşılayabilmektedir. Ancak piyasada mevcut protein ürünlerinin domuz kaynaklı olma ihtimali olduğundan bu durum tüketicilerde dini değerler noktasında endişe oluşturmaktadır. Ayrıca balık işleme sırasında ortaya çıkan atıklar hem ekonomik kayıp hem de çevre kirliliği riski oluşturmaktadır. Protein ihtiyacını karşılamak için balık atıklarından faydalanmak da mümkündür. Projemiz kapsamında balık atıklarından ekstraksiyonla balık jelatini, biyoteknolojik yöntemlerden enzimatik hidrolizle protein tozu ve ultrafiltrasyonla biyoaktif peptid üretimi yapılacaktır. Bu üretim sayesinde sağlıklı yaşamak isteyen bireyler, sporcular, gelişim çağındaki çocuklar, gıda takviyesi kullanan hastalar ve form ürünlerini tüketmek isteyen bireylerin kullanımına uygun sağlıklı, kaliteli ve helal protein ürünleri üretilmektedir. Ülkemizde halen sanayiye aktarımı yapılamayan balık atıklarından jelatin, protein tozu ve biyoaktif peptid üretimi ekstraksiyon, enzimatik hidroliz ve ultrafiltrasyon yöntemleri entegre olacak şekilde tek proses halinde gerçekleştirilecektir. Böylelikle balık atıkları ekonomiye kazandırılmış olup ithal ve/veya domuz kaynaklı jelatin, protein tozu ve biyoaktif peptid ürünlerine alternatif ürün üretilip aynı zamanda sürdürülebilir çevreye katkı sağlanmış olacaktır. Ayrıca projemiz On Birinci Kalkınma Planı hedeflerinden biyoteknoloji, gıda güvenliği ve sürdürülebilir çevre başlıklarına ve de Sıfır Atık Projesine pozitif katkıda bulunacaktır.

## 2. Problem/Sorun:

İnsanlar, sağlıklı bir hayat sürmek için beslenmektedir. Temel besin ihtiyaçlarından birini de proteinler oluşturmaktadır. Sağlıklı ve istenen yapıda bir vücuda sahip olmak isteyen bireylerin protein içeren gıdaları tüketmesi gerekmektedir. Protein alımının az ve/veya yetersiz olması durumunda çeşitli sağlık problemleri olması muhtemeldir. İnsan vücudunun temel yapı taşlarından olan proteinler, farklı bitkisel, hayvansal ve mikroorganizma kaynaklarından temin edilmektedir. İnsanların, protein ihtiyaçlarını gıda tüketimiyle karşılamaları mümkün olmakla beraber proteinleri daha konsantre bir şekilde temin etme imkânı da bulunmaktadır. Bu amaçla üretilen peynir altı suyu protein tozları bulunmaktadır. Ayrıca piyasada mevcut protein ürünlerinin domuz kaynaklı olma ihtimali de bulunduğundan bu durum tüketicilerde dini değerler noktasında endişe oluşturmaktadır. Bununla birlikte ülkemizdeki birçok sanayi sektöründe ortaya çıkan atıklar, değerlendirilemediği takdirde hem ekonomik kayıp hem de çevre kirliliği oluşturmaktadır. Bu atıkların büyük bir kısmını da balık atıkları oluşturmaktadır. Balık işlemede kullanılan balıkların %40'lık kısmı insan tüketimine uygunken deri, baş ve iskeletler başta olmak üzere %60'ı atık olarak ortaya çıkmaktadır. Bu atıklarda %30 civarında kollajen proteini bulunmaktadır.

Projemiz kapsamında kaliteli, sağlıklı ve helal protein ürünlerine ulaşmak isteyen bireylere işletmelerin bertaraf etmeye çalıştığı balık atıklarını, biyoteknolojik yöntemlerle değerlendirerek çözüm üretiyoruz.

## 3. Çözüm

Projemiz aracılığıyla balık atıklarından ekstraksiyonla balık jelatini, devamında farklı enzimler kullanılarak enzimatik hidrolizle protein tozu ve son aşamada ultrafiltrasyonla biyoaktif peptid üretimi gerçekleştirilecektir.

Projemiz kapsamında; önemli bir ekonomik kayıp olan balık atıklarının geliştirilecek prosesler ile balık jelatini, protein tozu ve biyoaktif peptid üretimi için kullanılması, atık miktarının ve çevre

kirliliğinin azaltılması ve bu süreçte yüksek katma değerli, ilk defa üretilecek yerli ve milli balık kökenli fonksiyonel ürünler ile ülkemiz ekonomisine katkı yapılması planlanmaktadır.

Belirtilen balık atıklarından ekstraksiyon, enzimatik hidroliz ve ultrafiltrasyon işlemleriyle balık jelatini, protein tozu ve biyoaktif peptid üretimi yapılarak, ana hedef kitlesi olan gıda firmaları, sporcular, sağlıklı yaşamak isteyen bireyler, gelişim çağındaki çocuklar, gıda takviyesi kullanan hastalar ve form ürünlerini tüketmek isteyen bireyler için kullanıma sunulması hedeflenmektedir.

Bu ürünlerin, balık atıklarından üretilebildiği ulusal ve uluslararası akademik çalışmalarla ispatlanmış ve yurtdışında sanayiye aktarımı artarak devam etmektedir. Ülkemizde aktarımın yapılamaması nedeniyle önemli bir fırsat kaybı yaşanmakta, atık miktarı artması nedeniyle çevresel etkiler görülmekte, giderek artan tüketimin yerli kaynaklarla karşılanamaması ve ithal tedarığe yönelme nedeniyle ekonomik kayıplar oluşmaktadır.

## 4. Yöntem

### 4.1. Balık Derilerinden Jelatin Üretimi

Balık derilerinden jelatin üretimi, Boran and Regenstein'in yöntemine göre yapılacaktır. Şöyle ki, balık derileri 500 mL'lik erlenmayere koyulacak ve ilk olarak NaOH (5:1 v/w, 0.55 N, 67.5 dk.) alkali çözeltisi ve sonrasında HCl (5:1 v/w, 0.1 N, 45 dk.) asit çözeltisiyle muamele edilecektir. Her alkali ve asit muamele işleminden sonra deriler, distile suyla (5:1 v/w) oda sıcaklığında yıkanacak ve 4 katlı tülbentten geçirilerek el ile sıkılacaktır. Sonrasında su banyosunda (Mommert WNB45, Schwabach, Germany) saf su ile ekstraksiyon (4:1 v/w, 50 °C, 3 h) işlemi gerçekleştirilecektir. Ekstraksiyon başlangıcında 15 dk., numune ve su banyosu sıcaklığının eşitlenmesi için beklenecek ve süre bu şekilde başlatılacaktır. Ekstraksiyondan sonra 4 katlı tülbentten filtreleme yapılarak balık derileri uzaklaştırılacaktır. Jelatin solüsyonları cam kaplara koyularak 60 °C'de yaklaşık 72 saat süreyle etüvde (Binder GmbH ED240, Germany) kurutulacaktır. Jelatin, yaprak şeklinde elde edilecek ve kullanıma kadar polietilen ambalajlarda kuru ortamda depolanacaktır.

### 4.2. Jelatin Hidrolizati Üretimi

Balık jelatini tozundan saf su kullanılarak %5'lik (w/v) çözelti hazırlanacak ve daha sonra ortam sıcaklığında gece boyunca hafifçe karıştırılacaktır. Jelatin solüsyonunun pH'sı, 0,1 M NaOH çözeltisiyle 7,0'ye ayarlanarak, flavourzyme® (E/S:1/100 [v/p]) ile 50 °C'de 1 saat süreyle hidroliz işlemi gerçekleştirilecektir. Sonrasında enzim 90 °C'de 20 dk. süreyle ısı yardımıyla inaktive edilecektir. Solüsyonlar, 10000 rpm'de 15 dk. santrifüj (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Germany) edilecek ve liyofilizatör (Martin Christ GmbH, Beta 1-8 LSCplus, Osterode am Harz, Germany) ile -50 °C'de kurumaya bırakılacaktır. Kuru toz halindeki hidrolizatlar ambalajlanarak depolanacaktır. Levrek derisinden jelatin ve hidrolizat deneme üretimine ait görseller Şekil 4.1'de verilmiştir.

### 4.3. Biyoaktif Peptid Üretimi

Jelatin hidrolizatlarından peptid fraksiyonları, sıralı ultrafiltrasyonla elde edilecektir. 5 ve 10 kDa molekül ağırlığına ayıran polietersülfon membranlar kullanılacaktır. Ultrafiltrasyon (Sterlitech HP4750, Washington, USA) prosesi sonucunda BF1 ( $\leq 5$  kDa), BF2 (5-10 kDa) ve BF3 ( $\geq 10$  kDa) olmak üzere üç farklı peptid fraksiyonu elde edilecektir. Elde edilen jelatin fraksiyonları hemen liyofilize edilerek kuru ortamda depolanacaktır.

#### 4.4. Ürün Analizleri

Elde edilen ürünlerin teknolojik ve biyoaktif özelliklerinin tespiti yapılacaktır. Bu anlamda jelatinin jel kuvveti, viskozite, pH analizleri ile özellikleri tespit edilecektir. Hidrolizat ve biyoaktif peptidlerin ise emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi, köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi, yağ bağlama, FT-IR ve zeta potansiyel analizleri ile birlikte antioksidan (DPPH ve FRAP) ve antikanser özellikleri tespit edilecektir.

##### 4.4.1. Jel Kuvveti (Bloom Derecesi)'nin Belirlenmesi

Öğütülmüş haldeki jelatin kullanılarak %6,67 konsantrasyonlu jelatin solüsyonu hazırlanacaktır. Jelatin parçacıkları, 60°C çalkalayıcı su banyosunda 30 dk. tutularak tamamen çözündürülecektir. Sonrasında 15 ml jelatin solüsyonu küçük plastik kavanozlara koyulacaktır. Kavanozlar sıkıca kapatılarak 4 °C de 16-18 saat olgunlaşma için bekletilecektir. Olgunlaşmış örneklerin jel kuvveti (Bloom Derecesi) 4°C de tespit edilecektir. Gel kuvvetin ölçümü TA-XT2 Texture Analyzer cihazı ile yapılacaktır. Baş penetrasyon hızı 1mm/s olacak şekilde numunelere 4 mm penetrasyon için gerekli kuvvet, jel kuvveti (g) olarak ölçülecektir.

##### 4.4.2. Viskozite

Viskozitenin belirlenmesinde Zhou and Regenstein'in kullandığı yöntem küçük değişiklikler yapılarak kullanılacaktır. Öğütülmüş haldeki jelatin kullanılarak %6,67 konsantrasyonlu jelatin solüsyonu hazırlanacaktır. Jelatin parçacıkları, 60°C çalkalayıcı su banyosunda (Wise Bath®, model WSB-30, Witeg Labortechnik GmgH) 30 dk. tutularak tamamen çözündürülecektir. Oda sıcaklığında Brookfield viskozimetre (Brookfield Engineering Laboratories, USA) cihazında 60 rpm'de ölçüm yapılacaktır. Değerler cP (centipoise) olarak ifade edilecektir.

##### 4.4.3. pH Analizi

Öğütülmüş haldeki jelatin kullanılarak %1 konsantrasyonlu jelatin solüsyonu hazırlanacaktır. Jelatin parçacıkları, 60°C çalkalayıcı su banyosunda 30 dk tutularak tamamen çözündürülecektir. Dijital pH metre (Seven Compact) cihazı ile oda sıcaklığında ölçüm yapılacaktır.

##### 4.4.4. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektroskopi Analizi

Balık jelatini ve peptid fraksiyonlarının %10'luk çözeltisi saf su ile hazırlanacaktır. Homojenizasyonun tam olarak gerçekleşmesi için çözeltiler, 45 °C'de 30 dk. su banyosunda (Memmert WNB45, Schwabach, Germany) bekletilecektir. Çözeltilerin ATR-FTIR sepktrumları (Bruker Tensor 27 FTIR spektrometre, Bremen, Almanya), 4 cm<sup>-1</sup> çözünürlük düzeyinde ve her spektrumda 16 tarama olacak şekilde okuma yapılacaktır. Spektrumlar 4000-600 cm<sup>-1</sup> orta kızılötesi bölgede kaydedilecektir. Her numune için aynı koşullarda ölçümü yapılacak ve üç spektrumun ortalaması alınacaktır. Her ölçüm öncesi, kristal yüzeyi saf su ve %100 saf etil alkol ile temizlenecektir.

##### 4.4.5. Jelatin Peptid Fraksiyonlarının Zeta Potansiyel Değerleri

Levrek jelatini ve peptid fraksiyonlarının %10'luk çözeltisi saf su ile hazırlanacaktır. Tam olarak



çözünme için numuneler, 45 °C'de 30 dk. su banyosunda (Memmert WNB45, Schwabach, Germany) bekletilecektir. 25 µL numune, 2 mL PBS (0,01 M ve pH 7,4) ile karıştırılarak Zetasizer Nano ZSP (Malvern, İngiltere) cihazı ile ölçüm yapılacaktır. Zeta potansiyel değerleri, en az 15 ölçüm içeren 3 çalışmadan ortalama olarak elde edilecektir.

#### 4.4.6. 2,2 Diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) Aktivitesi Analizi

Jelatin peptid fraksiyonlarının DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi, Dara, et al.nin yönteminde küçük değişiklik yapılarak belirlenecektir. Jelatin hidrolizat fraksiyonlarından (20 mg/mL) hazırlanacak solüsyonlardan 1,5 mL alınarak üzerine metanolde hazırlanmış 0,2mM DPPH çözeltisinden 1,5 mL eklenecektir. Karışım vortekslle (Velp ZX3 Vortex Mixer, Usmate (MB), Italy) yüksek hızda iyice karıştırılacaktır. Solüsyon, oda sıcaklığında 20 dk. süreyle karanlıkta bekletilecektir. Kontrol numunelerinde solüsyon yerine saf su kullanılacaktır. Absorbans, spektrofotometreyle (Shimadzu UV-1800, Tokyo, Japan) 517 nm dalga boyunda okunacaktır. Düşük absorbans değeri, yüksek radikal süpürme aktivitesi gösterdiğini işaret etmektedir. DPPH radikal süpürme aktivitesi aşağıdaki eşitlikle hesaplanacaktır:

DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi (%) =  $[1 - \text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{control}}] \times 100$

#### 4.4.7. Demir İyon İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Yöntemi

Jelatin peptid fraksiyonlarının indirgeme potansiyeli Ketnawa, et al.nin yönteminde bazı değişiklikler yapılarak belirlenecektir. FRAP analizindeki oksidan, asetat tamponu (pH 3,6), demir klorür çözeltisi (20mM) ve 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine solüsyonundan (40 mM HCl içinde 10 mM TPTZ) oluşmakta olup sırasıyla 10.1.1 (v/v/v) oranında kullanılacak ve analiz günü taze olarak hazırlanacaktır. Jelatin hidrolizat fraksiyonlarından (20 mg/mL) hazırlanmış solüsyonlardan 1 mL alınacak üzerine FRAP solüsyonundan 2 mL eklenerek vortekslenecektir (Velp ZX3 Vortex Mixer, Usmate (MB), Italy). Tüpler oda sıcaklığında 30 dk. süreyle karanlıkta bekletilerek spektrofotometreyle (Shimadzu UV-1800, Tokyo, Japan) 593 nm dalga boyunda absorbans okunacaktır. FRAP sonuçları, FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O ve Trolox kalibrasyon eğrisi çizilerek g hidrolizatta mmol Fe<sup>+2</sup> ve mmol Trolox eşdeğeri olarak hesaplanacaktır.

#### 4.4.8. In vitro Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesi

XTT yöntemi kullanılarak yapılacak *in vitro* toksisite testleri için Cakir-Koc, et al. tarafından açıklanan metot bazı modifikasyonlar yapılarak uygulanacaktır. Aktifleştirilen hücreler flasklardan kaldırılarak hemositometre ile sayımı yapılacaktır. Daha sonra hücreler, 10<sup>4</sup> hücre/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu mikropalakaya eklenerek, hücrelerin kuyucuk tabanına tutunması için 37 °C'de 24 saat inkübe edilecektir. Inkübasyon sonrası farklı konsantrasyonlardaki örnekler kuyucuklara eklenerek 37 °C'de % 5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde tekrar 24 saat inkübasyona bırakılacaktır. Daha sonra kuyucuklardaki medium kısmı uzaklaştırılarak 100 µl 2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sul-fophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanili-de (XTT, 0.5 mg/mL) çözeltisi kuyucuklara eklenecek ve mikropalakalar 37 °C'de 3 saat inkübe edilecektir. Inkübasyon sonunda mikropalaka okuyucuda (Biotek, Elx800, ABD) 450 nm dalga boyunda optik yoğunluk (OD) ölçülecek ve canlı hücre sayısı aşağıdaki formüle göre hesaplanacaktır:

%viability= (Örnek OD değeri / Kontrol OD değeri) x 100

#### 4.4.9. Emülsiyon Aktivitesi ve Stabilitesi

Emülsiyon aktivite indeksi (EAI) ve stabilite indeksi (ESI) Zamorano-Apodaca, et al.nin belirttiği yöntemde hafif değişiklik yapılarak belirlenecektir. Liyofilize haldeki jelatin peptid fraksiyonları çözeltisinden (%0,1 p/v) 30 mL alınacak ve üzerine 3 mL mısır yağı eklenecektir. Karışım, Ultra-turax (Daihan HG-15D, Seoul, Korea) cihazı kullanılarak 20.000 xg'de 1 dk. süreyle homojenize edilecektir. Homojenizasyondan sonra 0 ve 10. dakika sonunda emülsiyonun alt kısmından alınan 50 µL emülsiyon, %0,1 (w/v) dodesil sülfat sodyum tuzu (SDS) ile 5 mL'ye seyreltilenecektir. Seyreltirmiş solüsyonların absorbansı spektrofotometre (Shimadzu UV-1800, Tokyo, Japan) ile 500 nm dalga boyunda okunacaktır. EAI ve ESI değerlerinin hesaplanması için okunan absorbanslar ( $A_0$  ve  $A_{10}$ ), aşağıdaki eşitliklerde kullanılacaktır:

$$EAI (m^2/g) = (2 \times 2,303 \times A_0) / (C \times \varphi)$$

$A_0$  = 500 nm dalga boyundaki absorbans

$C$  = Protein başlangıç konsantrasyonu (g/mL)

$\varphi$  = Emülsiyondaki yağ hacmi

$$ESI (dk.) = (A_0 \times \Delta t) / \Delta A$$

$A_{10}$  = 10 dk. sonundaki absorbans

$\Delta t$  = 10 dk.

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

#### 4.4.10. Köpük Kapasitesi ve Stabilitesi

Köpük kapasitesi ve köpük stabilitesi, Zamorano-Apodaca, et al.nin kullandığı yöntemde küçük değişiklik yapılarak belirlenecektir. Liyofilize haldeki jelatin peptid fraksiyonları çözeltisinden (%0,5 p/v) 10 mL alınacak ve Ultra-turax (Daihan HG-15D, Seoul, Korea) cihazı kullanılarak 16.000 xg'de oda sıcaklığında 2 dk. süreyle homojenize edilecektir. Toplam köpük hacmi, homojenizasyon sonucunda 0, 3 ve 10 dk. sonra ölçülecektir. Köpük kapasitesi, 0. dakikada oluşan köpük genişmesini ifade ederken, köpük stabilitesi, 10. dakikada oluşan köpük genişmesini ifade etmektedir. Köpük genişmesi aşağıdaki eşitlikle hesaplanacaktır:

$$\text{Köpük genişmesi (\%)} = [(A - B) / B] \times 100$$

A: Farklı zamanlardaki hacim (mL)

B: Homojenizasyondan önceki hacim (mL)

#### 4.4.11. Yağ Bağlama Kapasitesi

Jelatin ve peptid fraksiyonlarının yağ bağlama kapasitesi, Karoud, et al. tarafından belirtilen yöntemde değişiklik yapılarak belirlenecektir. Darası alınmış santrifüj tüplerine 20 mg numune koyularak tartılacaktır. Üzerine 400 µL mısır yağı eklenerek oda sıcaklığında 1 saat bekletilecektir. Karışımlar, vorteksle (Velp ZX3 Vortex Mixer, Italy) her 15 dk.da 5 sn. karıştırılacaktır. Sonrasında 5000 rpm'de 10 dk. santrifüj (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Germany) edilecek ve yağ fazı uzaklaştırılacaktır. Kontrol grubu için boş bir santrifüj tüpüne örnek koymadan sadece yağ

eklenecektir. Yağ bağlama kapasitesi, mL yağ /g protein olarak ifade edilecektir.



Şekil 4.1 Levrek derisinden üretilen jelatin ve hidrolizat numuneleri

## 5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

Projemiz aracılığıyla balık atıklarından jelatin, protein tozu ve biyoaktif peptid üretimi yapılacaktır. Ülkemizde üretimi bulunmayan bu ürünlerin üretiminde ekstraksiyon, enzimatik hidroliz ve ultrafiltrasyon teknolojisi kullanılacaktır. Bu teknoloji ülkemizdeki balık atıklarının değerlendirilmesinde optimize edilecek ve kendi balık türlerimize özgün bir teknoloji ortaya çıkarılacaktır, bu yönüyle standart üretim yöntemlerine göre daha verimli ve hızlı bir üretim süreci oluşacaktır.

Yapılacak üretim tek proses hattından oluşmakta olup prosesin ilk aşamasında balık jelatini, ikinci aşamasında protein tozu ve son aşamasında biyoaktif peptid elde edilecektir. Bu süreçler normalde ayrı ayrı yapılmaktadır. Projemizle birlikte üç proses birleştirilerek tek proseste işlem yapılacaktır. Projemizle muadillerine göre piyasa talebine uygun çıktı elde etmeyi sağlayan esnek bir üretim süreci gerçekleşecek, süreçlerin entegrasyonu sayesinde de enerji, lojistik ve ürün verimi noktasında avantaj sağlanacaktır.

Ülkemizde protein tozu genellikle peynir altı suyundan isolat veya filtrasyon yöntemiyle üretilmektedir. Balık atıklarından protein tozu üretimi halen sanayiye aktarılamamıştır. Yurtdışında ise balık atıklarından direkt olarak enzimatik hidroliz ile protein tozu üretilmektedir. Çalışmamızda önce ekstraksiyon ile jelatin üretimi yapılacak olup sonrasında istenen son ürünün niteliğine göre farklı enzimler kullanılarak protein tozu ve ultrafiltrasyon ile biyoaktif peptid içerikli fonksiyonel gıda üretimi yapılacaktır.

Ürettiğimiz ürünün muhtemel rakipleri peynir altı suyu ve ithal protein tozlarıdır. Bu ürünlerden en



belirgin farkımız, ülkemizde balık atıklarından ilk defa yapılan balık jelatini, protein tozu ve biyoaktif peptid içerikli fonksiyonel gıda ürünleri olmamızdır.

Geliştirilecek teknoloji ile prosesler yerli ve milli olmasının yanında ülkemizdeki balık üretimine özgü olması nedeniyle de özgün olacaktır. Rakipler süt sektöründeki atıkları değerlendirmek için yönelmişlerdir. Ancak balık atıklarında süt kaynaklı üretime göre önemli oranda yüksek ve iyi kalitede protein bulunmaktadır. Balık kaynaklı üretim ile katma değeri, süt kaynaklı olanlara göre yüksek üretim gerçekleştirilecektir. Bu alanda ülkemizde üretim yapan bir firma bulunmamaktadır. Böylelikle bu teknolojinin geliştirilmesiyle ülkemize özgü bir konuma getirilerek yerli sanayiye kazandırılmış ve ithal ikamesi olan protein ürünleri üretilmiş olacaktır. Rakiplerimiz filtrasyon teknolojisini kullanırken firmamız ekstraksiyon, enzimatik hidroliz ve ultrafiltrasyon teknolojilerini entegre ederek oluşturduğu özgün prosesi kullanarak tek proses hattında üç farklı ürün üretimi yapabilecektir. Ayrıca projemiz, On Birinci Kalkınma Planı hedeflerinden biyoteknoloji, gıda güvenliği ve sürdürülebilir çevre başlıklarına, ayrıca Sıfır Atık Projesine pozitif katkıda bulunacaktır.

## 6. Uygulanabilirlik

Ülkemizde takviye edici gıda pazarı 2016 yılında 735 milyon liraya, sporcu gıdaları pazarı ise 165 milyon liraya ulaşmıştır. Ülkemizde yaklaşık 1 milyon ton miktar protein tozu bu amaçla kullanılmaktadır. Euromonitor'ün paylaştığı verilere göre 2021 yılında takviye edici gıda pazarının 950 milyon liraya, sporcu gıdaları pazarının ise 225 milyon liraya ulaşması beklenmektedir. Aylık olarak sporcu gıda ürünlerine 2000 TL'ye kadar harcama yapan bireyler bulunmaktadır. Dünya Takviye edici gıda pazar büyüklüğü 90 milyar dolardır. Global ve Türkiye'deki bugünkü pazara bakıldığında ülkemizde bu sektörde ciddi bir artışın olacağı beklenmektedir.

Türkiye jelatin pazarı hakkında detaylı ve yaygın bilgi olmamakla birlikte yapılan araştırmalar 6.000 ton/yıl üzeri bir jelatin pazarı büyüklüğü olduğunu göstermektedir. Yerli pazarda Halavet, Seljel ve BB Tarım firmaları sığır jelatini üretimi yapmaktadır. Niş bir ürün olması, az sayıda üretici bulunması ve Helal ürün konusunda eksiklik (Hayvansal jelatinin domuz ürünlerinden de elde edilmesi) nedeniyle hızlı pazar payı kazanma ve büyüme potansiyeli bulunmaktadır.

Balık atıklarında kaliteli jelatin ve protein olduğu, yerli bir firmanın yerli hammaddeyle üretim yapacağı ön planda tutularak ticari kazanımların artırılabilmesi mümkündür. Katma değeri yüksek ürün olarak biyoaktif peptidlerin (premium ürün) sunumu ön plana çıkmaktadır.

Dünya nüfusundaki artış, gıda tüketimini ve dolayısıyla da gıda takviyesi talebini tetiklemektedir. Dolayısıyla yaşam devam ettiği ve bireylerin sağlıklı yaşamı tercih ettiği müddetçe gıda ürünleri pazarının tıkanması mümkün gözükmemektedir. Bu nedenle ürettiğimiz ürünlerin pazarının büyümesi muhtemeldir. Ayrıca vitamin, mineral vb. katkılı ürünlerle mevcut ve/veya yeni müşterilere ulaşmak mümkündür. Bununla beraber Ar-Ge ile yeni enzim veya enzim karışımları kullanılarak yeni ürünler geliştirilebilecektir. Özellikle balık işleyen büyük firmalarla ortaklıklar kurarak üretimi arttırmak ve dağıtım kanallarının geliştirilmesiyle pazar payını arttırmak mümkündür.

Üretilen 3 üründe de global marketin düzenli olarak büyüyeceği, Türkiye pazarının yeterli potansiyele ulaşamamış olması nedeniyle global piyasalara kıyasla daha fazla büyüyeceği öngörülmektedir. Ürün çeşitliliği ve üretim esnekliğimiz sayesinde markette yıllara göre en büyük potansiyelli alanda üretim yapma imkânı belirtilen market dinamikleri ile birlikte değerlendirildiğinde kısa- orta ve uzun vadede önemli bir potansiyel bulunduğu ve sürekli büyüme gerçekleşmesi öngörülmektedir. Ayrıca bilinçli tüketicilerin farklı gıda arayışları ve helal gıda talepleri de ticari sürdürülebilirlik noktasında olumlu katkı sağlayacaktır.



## 7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması

Projenin tahmini miktarı ve projede kullanılacak olan sarf malzemeler aşağıdaki tabloda verilmiştir. Aynı zamanda proje takvimi de tabloda özetlenmiştir.

**Tablo 7.1.** Proje Takvimi

İP No	İş Paketlerinin Adı ve Hedefleri	Kim(ler) Tarafından Gerçekleştirileceği	Zaman Aralığı (...-.. Ay)	Başarı Ölçütü ve Projenin Başarısına Katkısı
1	Araştırma Altyapısının Oluşturulması	Arş. Gör. Fatih BOZKURT Şefik TEKLE	2-3 Ay	%25
2	Balık Derilerinin Temin Edilmesi	Şefik TEKLE	1-2 Ay	%15
3	Balık Jelatini ve Protein Hidrolizatı Üretimi	Şefik TEKLE Arş. Gör. Fatih BOZKURT	1-2 Ay	%30
4	Fizikokimyasal ve Teknolojik Özelliklerin Analizi	Şefik TEKLE Arş. Gör. Fatih BOZKURT	2-3 Ay	%20
5	Veri Analizi ve Raporlama	Şefik TEKLE	2-3 Ay	%10

**Tablo7.2** Projede kullanılacak malzeme listesi

Sarf Malzemeleri				
Adı	Birim Fiyatı	Adet	Bedeli (TL)	Kullanım Gerekçesi
Tek kanallı 4'lü pipet Seti Eppendorf ve pipet uçları	12.500,00	1	12.500,00	Jelatin, Hidrolizat ve biyoatif peptid üretimi ve analizlerinde kullanılacaktır.
Ultrasonik Banyo- Standart – 3 L (İsolab)	3.500,00	1	3.500,00	Jelatin, Hidrolizat ve biyoatif peptid üretimi ve analizlerinde kullanılacaktır.
Cam malzeme (Erlenmayer, Beher, BalonJoje, Mezür vb.)	2.500,00	2	5.000,00	Jelatin, Hidrolizat ve biyoatif peptid üretimi ve analizlerinde kullanılacaktır.
BRAND Titrette® Dijital Büret 50 mL	9.329,85	1	9.329,85	Hidrolizat üretiminde ve analizlerinde kullanılacaktır
Sodyum Hidroksit (NaOH) 1 kg	150	1	150,00	Jelatin ve hidrolizat üretiminde kullanılacaktır.
Hidroklorik Asit (HCl) 2,5 L	90	2,5	225,00	Jelatin üretiminde kullanılacaktır.
Filtre Kâğıdı	210	1	210,00	Jelatin üretiminde ve su tutma kapasitesinin tespitinde kullanılacaktır.

Enzim (Flavourzyme) 250 ml	2.735,00	1	2.735,00	Hidrolizat üretiminde kullanılacaktır.
Parafilm	285	1	285,00	Laboratuvar çalışmalarının her aşamasında kullanılacaktır.
Whey protein İçecekleri 1 kg	150	1	150,00	Gıda ürünü çalışması ve duyuusal analizde kullanılacaktır.
Alüminyum folyo	100	1	100,00	Jelatin üretiminde kullanılacaktır.
Trolox® standardı 1 gr	680	1	680,00	Antioksidan kapasite belirlemede kullanılacaktır.
DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 1 gr	1.100,00	1	1.100,00	Antioksidan kapasite belirlemede kullanılacaktır.
Ferric chloride hexahydrate (FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O) 5 gr	293,18	1	293,18	Antioksidan kapasite belirlemede kullanılacaktır.
Sodium acetate 5 gr	505,56	1	505,56	Antioksidan kapasite belirlemede kullanılacaktır.
,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine, TPTZ 5 gr	1.771,56	1	1.771,56	Antioksidan kapasite belirlemede kullanılacaktır.
ABTS 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt 1 gr	780	1	780,00	Antioksidan kapasite belirlemede kullanılacaktır.
Phosphate Buffered Saline 1 kutu	900	1	900,00	Antioksidan kapasite belirlemede kullanılacaktır.
PES membran 47 mm 1 kDa 5kDa 10k Da 3x10 adet	5.550,00	1	5.550,00	Ultrafiltrasyon (UF) Membran ile Fraksiyonlama
SDS 1 kg	550	1	550,00	Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi analizinde kullanılacaktır.
Siğır Jelatini 100 gr	515	1	515,00	Balık jelatinlerinin özelliklerinin kontrolü ve kıyaslanmasında kullanılacaktır.
<b>Talep Edilen Destek Toplamı</b>			<b>46.830,15</b>	

### 8. Proje Fikrinin Hedef Kitlesi (Kullanıcılar):

Üretilen balık jelatinleri, gıda firmalarına; protein tozları ise proteince zenginleştirilmiş ürün üreten gıda firmalarına, protein tozu üreticilerine, amatör ve profesyonel sporculara, gelişme çağındaki çocuklara, protein gıda takviyesi kullanan hastalara ve form ürünleri tüketmek isteyen kişilere sunulacaktır. Biyoaktif peptidler ise fonksiyonel gıda üretimi yapan firmalara sunulacaktır.

## 9. Riskler

**Tablo 9.1** Projedeki riskler ve alternatif planlar

İP No	En Önemli Riskler	Risk Yönetimi (B Planı)
1	Protein Hidrolizatı Üretiminde Kullanılan Proteolitik Enzimlerin Aktivitesine Bağlı Problemlerin Ortaya Çıkması	Farklı Proteolitik Enzimlerin Kullanılması
2	Gıda Ürün Denemelerinde Oluşabilecek Riskler	Farklı Gıda Ürünü (bebek mamaları vb.) Denemelerinin Yapılması

## 10. Proje Ekibi

### Takım Lideri: Şefik TEKLE

Adı Soyadı	Projedeki Görevi	Okul	Projeye veya problemle ilgili tecrübesi
Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ	Danışman	Yıldız Üniversitesi	Teknik TUBİTAK projeleri ve Akademik yayınlar
Arş. Gör. Fatih BOZKURT	Araştırmacı	Yıldız Üniversitesi	Teknik Akademik Yayınlar ve Doktora tez çalışması

\*Tüm üyeleri tabloya eklemeniz gerekmektedir. Tablo Örnektir. Farklı tasarımlar ile tablo oluşturabilirsiniz.

## 11. Kaynaklar

Zamorano-Apodaca, J. C., Garcia-Sifuentes, C. O., Carvajal-Millan, E., Vallejo-Galland, B., Scheuren-Acevedo, S. M., & Lugo-Sanchez, M. E. (2020). Biological and functional properties of peptide fractions obtained from collagen hydrolysate derived from mixed by-products of different fish. *Food Chemistry*, 331. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127350>

Lv, L.-C., Huang, Q.-Y., Ding, W., Xiao, X.-H., Zhang, H.-Y., & Xiong, L.-X. (2019). Fish gelatin: The novel potential applications. *Journal of Functional Foods*, 63, 103581. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103581>

Mirzapour-Kouhdasht, A., Moosavi-Nasab, M., Krishnaswamy, K., & Khalesi, M. (2020). Optimization of gelatin production from Barred mackerel by-products: Characterization and hydrolysis using native and commercial proteases. *Food Hydrocolloids*, 108, 105970. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105970>

Hajfathalian, M., Ghelichi, S., García-Moreno, P. J., Moltke Sørensen, A.-D., & Jacobsen, C. (2018). Peptides: Production, bioactivity, functionality, and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(18), 3097-3129. doi:10.1080/10408398.2017.1352564

U.G, Y., Bhat, I., Karunasagar, I., & B.S, M. (2019). Antihypertensive activity of fish protein hydrolysates and its peptides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(15), 2363-2374. doi:10.1080/10408398.2018.1452182



G. Boran and J. M. Regenstein, "Optimization of gelatin extraction from silver carp skin," *J Food Sci*, vol. 74, no. 8, pp. E432-41, Oct 2009, doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01328.x.

Zhou, P., & Regenstein, J. M. (2004). Optimization of extraction conditions for pollock skin gelatin. *Journal of Food Science*, 69:C393–C398.

N. Cebi, M. Z. Durak, O. S. Toker, O. Sagdic, and M. Arici, "An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins," *Food Chem*, vol. 190, pp. 1109-1115, 2016/01/01/ 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.065>.

P. K. Dara, K. Elavarasan, and B. Aswathnarayan Shamasundar, "Characterization of antioxidant and surface active properties of gelatin hydrolysates obtained from croaker fish skin," *Int Aquat Res*, vol. 12, no. 2, pp. 116-126, 2020, doi: [https://doi.org/10.22034/IAR\(20\).2020.1892203.1006](https://doi.org/10.22034/IAR(20).2020.1892203.1006).

S. Ketnawa, S. Benjakul, O. Martínez-Alvarez, and S. Rawdkuen, "Fish skin gelatin hydrolysates produced by visceral peptidase and bovine trypsin: Bioactivity and stability," *Food Chem*, vol. 215, pp. 383-390, 2017/01/15/ 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.145>.

R. Cakir-Koc, Y. Budama-Kilinc, Z. Kaya, B. B. Orcen, and E. Ucarkus, "Coconut Oil-Loaded Chitosan Nanoparticles for The Treatment of Acne Vulgaris: Cytotoxicity, Antibacterial Activity, and Antibiofilm Properties," (in English), *Fresenius Environ. Bull.*, Article vol. 27, no. 5, pp. 2642-2648, 2018. [Online]. Available: [https://www.prt-parlar.de/download\\_feb\\_2018/](https://www.prt-parlar.de/download_feb_2018/).

J. C. Zamorano-Apodaca, C. O. Garcia-Sifuentes, E. Carvajal-Millan, B. Vallejo-Galland, S. M. Scheuren-Acevedo, and M. E. Lugo-Sanchez, "Biological and functional properties of peptide fractions obtained from collagen hydrolysate derived from mixed by-products of different fish," (in English), *Food Chem*, vol. 331, Nov 30 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127350>.

W. Karoud, A. Sila, F. Krichen, O. Martinez-Alvarez, and A. Bougatef, "Characterization, Surface Properties and Biological Activities of Protein Hydrolysates Obtained from Hake (*Merluccius merluccius*) Heads," *Waste Biomass Valori*, vol. 10, no. 2, pp. 287-297, 2019/02/01 2019, doi: <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0069-9>.

**RAPOR TASLAKLARI İLE İLGİLİ NOT:**

- Yukarıda yer alan 11 madde en fazla 15 (on beş) sayfada anlatılacaktır.
- En fazla 2 (iki) sayfa görsel Ek olarak gönderilebilir.
- Kapak, açıklama ve görsel olmak üzere en fazla 17 sayfa olacaktır.
- Tüm raporlar akademik rapor standartlarına uygun olarak yazılmalıdır.
- Her rapor bir kapak sayfası içermelidir.
- Yazı tipi: Times New Roman, Punto: 12, Satır Aralıkları: 1,15, iki tarafa yastı, sayfa kenar boşlukları üst-alt-sağ-sol 2,5 cm olmalıdır. Cilt payı bırakılması gerekmektedir.
- Rapor içindeki cümleler birbirinin aynı ve tekrarı niteliğinde olmamalıdır.
- Kaynaklardan alınan cümleler ve ifadeler proje rapor yazarının uyarlamalarına sahip olmalı kopyala – yapıştır ile doğrudan alınan cümlelere yer verilmemelidir.

