

Jelatin ve Fizikokimyasal Özellikleri

Aydın Erge ✉, Ömer Zorba

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu

Geliş Tarihi (Received): 24.02.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 05.06.2016✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): aydin.erge@ibu.edu.tr (A. Erge)*

☎ 0 374 254 10 00-4861 📠 0 374 253 45 58

ÖZ

Jelatin hayvansal deri, kemik ve bağ dokusunun temel bir bileşeni olan kollajenin kontrollü şartlarda hidrolizi ile elde edilen bir biyopolimerdir. Kendine özgü fonksiyonel ve teknolojik avantajlarından dolayı jelatin, özellikle gıda endüstrisinde jelleştirici, kıvam artırıcı, su bağlayıcı, emülsifiye edici, köpük oluşturu ve film oluşturu olarak kullanılan ve büyük ölçüde saf bir proteindir. Pazardaki diğer hidrokoloidlerden hiçbirisi yukarıda bahsedilen tüm bu özellikleri karşılayamamaktadır. Ayrıca jelatin ilaç, kozmetik ve fotoğrafçılık gibi bazı endüstrilerde de kullanılabilir. Bu derlemede kollajenin yapısı, jelatinin yapısı, jelatinin üretimi ve fizikokimyasal özellikleri açıklanmaya çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Jelatin, Kollajen, Fizikokimyasal özellikler, Jel kuvveti, Hayvansal yan ürünler

Gelatin and Its Physicochemical Properties

ABSTRACT

Gelatin is a biopolymer derived by controlled hydrolysis of collagen, which is the principal constituent of animal skin, bone, and connective tissue. Gelatin is a substantially pure protein used especially in food industry as gelling, thickening, water binding, emulsifying, foaming and film forming agent because of its specific functional and technological advantages. None of the other hydrocolloids on the market is capable of covering all of these properties. Moreover, gelatin could be used in some industries such as pharmaceutical, cosmetics and photographic. In this study, the structures of collagen and gelatin, the production and the physicochemical properties of gelatin are reviewed.

Keywords: Gelatin, Collagen, Physicochemical properties, Gel strength, Animal by-products

GİRİŞ

Jelatinin hayvansal dokulardan elde edilmesi antik çağlara kadar dayanmaktadır. İlk olarak zamk üretim amacıyla kullanılmıştır. 16. Yüzyılda, İngiltere’de VIII. Henry hükümdarlığında özel tören yemeklerinde jelatinin kullanıldığı belirtilmektedir. Jelatin üretimi, zaman içerisinde endüstriye aktarılmış ve günümüzde kendisine gıdadan fotoğraf sanayine kadar sayısız uygulama alanı bulmuştur [1]. Jelatin gıda sanayinde jelleştirici, kıvam artırıcı, su bağlayıcı, emülsifiye edici, köpük oluşturu ve film oluşturu gibi amaçlarla

kullanılmaktadır [2]. Ayrıca dünyada doğal bir gıda olarak kabul edildiği için tüketimi ve gıdalarda katkı olarak kullanımı sınırlandırılmamaktadır. Jelatin; özellikle sporcu gıdalarında, obezite ve şeker hastalığına yönelik özel gıdalarda kullanılmaktadır. Sindirimi kolay olduğu için metabolizmada tamamen yıkıma uğradığı belirtilmektedir. Jelatin; ilaç sanayinde serumlarda, kapsüllerde, vitamin kaplama materyallerinde kullanım alanı bulmaktadır. Kozmetik sanayinde saç ve deri bakım ürünlerinde de kullanıldığı bilinmektedir. Diğer taraftan çeşitli araştırmalarda

jelatinin, iskelet ve omurilik sistemi üzerinde rejeneratif etkisi olduğu belirtilmektedir [3].

Dünyada yıllık jelatin üretiminin her yıl artış gösterdiği ve 2011 yılı verilerine göre toplam üretimin yaklaşık 348.900 ton olduğu bildirilmiştir [4]. Jelatinin geniş kullanım alanı, jelatin üreticileri arasında hammadde temini bakımından ciddi bir rekabet yaşanmasına ve fiyatların yükselmesine neden olmaktadır. Jelatin ihtiyacındaki artışa karşılık hayvansal kaynakların sınırlı olması, endüstrinin ve akademik araştırmacıların jelatine alternatif yeni bir ürün geliştirmesine veya jelatin kaynağı olabilecek farklı hammaddeler üzerine yoğunlaşmalarına neden olmuştur. Son on yılda jelatin pazarında, balık ve kanatlı sanayi kaynaklı jelatinler üzerinde durulmakta, bu ürünlerin verim ve kalitelerinin iyileştirilmesi hususunda çalışmalar yapılmaktadır [5]. Jelatin üretiminde en büyük kaynak domuz derisi olup (%46) bunu sığır derisi (%29.4), sığır ve domuz kemiği (%23.1) izlemektedir. Balık jelatinini, toplam üretimin %1.5'dan az kısmını oluşturmaktadır [6]. Son yıllarda alternatif bir kaynak olarak elde edilen jelatin özelliklerini de farklılık arz etmektedir [8]. Jelatin üretiminde kullanılan hayvansal kaynaklar, jelatin ekstraksiyon yöntemleri ve fizikokimyasal özellikleri çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. Bu çalışmada ise jelatinin kaynağı ve üretim koşullarının jelatinin fizikokimyasal özellikleri üzerine olan etkileri hakkında genel bir değerlendirme yapılması hedeflenmiştir.

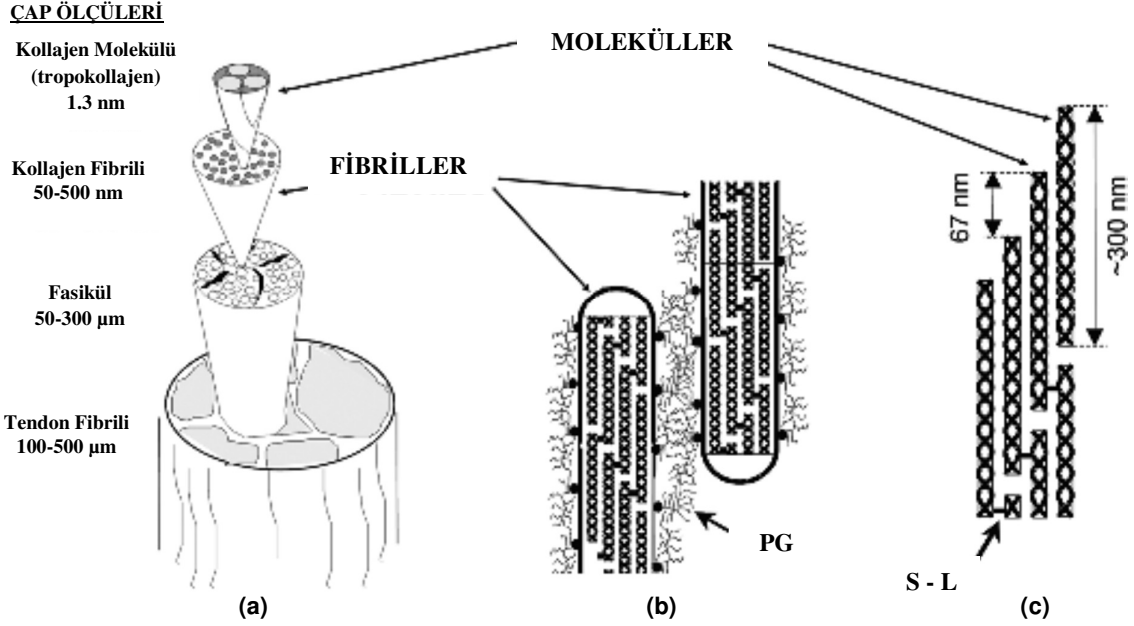
KOLLAJEN

Jelatinin kaynağı olan kollajen, fibriler ve α -heliks yapıda suda çözünmeyen hayvansal bir proteindir. Hayvansal dokulardan deri, kemik, tendon, kıkırdak ve dişlerde ana element olarak bulunup toplam vücut proteinlerinin yaklaşık üçte birini oluşturmaktadır. Kollajenin yapısında %35 glisin, %12 prolin, %11 alanin ve %9 hidroksiprolin bulunmaktadır. Kollajeni diğer proteinlerden ayıran en önemli özelliği %12 prolin ve %9 oranında hidroksiprolin içermesidir ki diğer proteinlerde bu aminoasitler çok daha az görülmektedir [9]. Kollajenin kendine özgü olan bu aminoasit içeriği ve dizilimi, kendisini oluşturan heliks yapının belirleyicisidir. Kollajenin aminoasit diziliminde genellikle "Glisin-X-Prolin" veya "Glisin-X-Hidroksiprolin" şeklinde tekrarlayan tripeptit birimleri bulunmaktadır. Aradaki X, herhangi bir aminoasit olabilmektedir. Bu

dizilimde glisin, α zincirleri arasındaki bağlanma bölgelerinde; prolin ise kollajen heliksünün keskin dönüş bölgelerinde yer almaktadır. Kollajenin aminoasit dizilimi üç polipeptit zincirinin çok sıkı şekilde birlikteliklerine izin vermekte ve bu sayede oluşan üçlü heliks yapı kollajene yüksek gerilme ve direnç özelliği sağlamaktadır [10].

Kollajenin üçüncül yapısından sorumlu olan monomeri tropokollajen, yaklaşık 3000 Å uzunluğunda ve 15 Å çapında fibriler yapıdaki bilinen en uzun proteindir. Tropokollajen, aynı uzunlukta α -1 olarak gösterilen birbirinin aynı iki zincir ve α -2 olarak gösterilen üçüncü bir zincirin bir araya gelerek sol-el heliksi şeklinde birbiri etrafında sarılarak ortak üçlü sarmal yapı oluşturmasıyla ortaya çıkan ve molekül ağırlığı yaklaşık 300.000 dalton olan bir makromoleküldür. Her bir zincirde yaklaşık 1.000 aminoasit bulunmaktadır [9]. Tropokollajen, kendisini oluşturan zincirlerin aksine sağ-el dönüşlüdür. Zincirler arasındaki hidrojen bağları yardımıyla üç zincir bir arada tutulmaktadır. Hidrojen vericisi her polipeptitteki glisin aminoasidinin peptit azotu (-NH), hidrojen alıcısı ise diğer zincirdeki karbonil (-C=O) oksijeni olmaktadır. Diğer taraftan zincirlerde bulunan lizin aminoasitleri, enzimatik bir reaksiyon sonucu zincirler arası çapraz bağlar kurmaktadır. Çapraz bağlar hem üçlü sarmal heliks yapının içinde hem de üçlü birimler arasında oluşmaktadır. Çapraz bağlanmaların fazla olması, proteindeki fibriler yapının sert olmasını, az olması ise fibriler yapının daha esnek olmasını sağlamaktadır [9]. Kollajen moleküllerinin (tropokollajen) çeşitli şekillerde birleşmesiyle üst moleküler yapılar olan kollajen fibrilleri oluşmaktadır [10]. Kollajen proteinin tendon bağ dokusu içerisinde hiyerarşik yapısı Şekil 1'de gösterilmiştir.

Birçok dokuda bulunan kollajenin çok az kısmı (<5) seyreltik asit veya tuzlu su çözeltisinde çözünabilir durumdadır ve hayvanın yaşlanmasıyla beraber çözünmeyen kollajen miktarı da azalmaktadır. Kollajende molekül içi olduğu kadar moleküller arası çapraz bağlar da bulunmaktadır. Kollajene asıl stabil yapısını kazandıran moleküller arası bağlardır ve hayvan yaşlandıkça bu bağların sayısı da artmaktadır. Hayvan yaşlandıkça orta seviyedeki çapraz bağlar ileri düzeyde reaksiyonlara maruz kalmakta ve iki değerlikli yerine üç değerlikli bağlar kurulmaktadır. Bu bağlar iki yerine üç kollajen molekülünü birbirine bağlayabilmekte ve gerilmeye olan direnci de artmaktadır. Bu çapraz bağlar nedeniyle çözünür jelatini elde edebilmek için daha şiddetli bir proses gerekmektedir [11]. Bugüne kadar memeli dokularında, aminoasit dizilimi ve işlev bakımından farklı olan en az 28 tip kollajenin tanımlandığı belirtilmektedir [8].



Şekil 1. Tendonun hiyerarşik yapısı (kollajenin yapısı ve mekaniği): (a) Tendonun yapısını oluşturan temel birimler: Tendon fibrili, fasikül, kollajen fibrili ve kollajen molekülü (tropokollajen); (b) fibriller arasındaki proteoglikan zengin bölge (PG); (c) sistein ve lizin aminoasitlerinin kollajen molekülüleri arasında oluşturdukları çapraz bağlar (S-L) [12].

JELATİNİN YAPISI

Tropokollajenin suda 40°C ve üzerinde ısıtılmasıyla proteinin fiziksel özelliklerinde değişiklikler görülmektedir. Çözelti viskozitesi düşmekte ve fibriller yapı bozulmaktadır [9]. Sıcaklık artışıyla üçlü heliks yapı bozulmakta ve α- zincirlerinden (molekül ağırlığı yaklaşık 100.000), β-zincirlerinden (iki α- zincirinin kovalent bağlarla birbirine bağlanmış hali) ve γ-zincirlerinden (üç α- zincirinin bir araya gelmiş hali) oluşan heterojen bir yapı, yani jelatin meydana gelmektedir [11]. Bu yapının aminoasit kompozisyonu, jelatinin ekstraksiyonu sırasında yapılan işlemlere ve kollajenin kaynağına bağlı olarak değişmektedir. Tablo 1'de farklı jelatin örneklerine ait aminoasit dağılımları belirtilmiştir [11].

Heliks yapının % 50'sinin bozulması için gerekli sıcaklık derecesi ergime derecesi (T_m) olarak tanımlanmaktadır. Bu değer (T_m), sarmal yapının sağlamlığının bir göstergesidir. Tropokollajenin ergime sıcaklığının soğuk su balıklarında düşük, sıcakkanlı hayvanlarda ise yüksek olduğu belirtilmektedir. Kollajenin ısıya dayanımının, prolin ve hidroksiprolin miktarı ile doğru orantılı olduğu, bu iki aminoasit miktarının sıcak kanlı hayvanlarda yüksek, soğuk kanlı hayvanlarda ise düşük düzeyde olduğu bildirilmektedir (Tablo 2) [9].

Jelatinler, elde edildiği kollajenlerin karakteristik yapısına göre iyonik yük ve moleküler büyüklük açısından değişmektedir. Jelatinin aminoasit dağılımını büyük oranda glisin, prolin, alanin ve hidroksiprolin oluşturmaktadır. Prolin, hidroksiprolin ve alanin; "Glisin - Prolin - R" tripeptitlerinin oluşturduğu jelatin aminoasit zincirinin polar olmayan bölgelerinde bulunmaktadır. Bu dizilimde R, hidroksiprolin de dahil olmak üzere genellikle non-polar (polar olmayan) aminoasitler olmaktadır. Bu non-polar bölgeler, prolin ve hidroksiprolinin nispeten az olduğu polar bölgelerle beraber zincir içerisinde dağılmış durumdadır. Jelatindeki bir diğer farklılık da türler arasında kollajenlerin içerdiği prolin+hidroksiprolin miktarlarının belirgin şekilde değişmesinden kaynaklanmaktadır. Isıya dayanım açısından, prolin miktarı önemli olmakla beraber ondan daha belirleyici olan unsurun üçüncü pozisyonda bulunan hidroksiprolin olduğu belirtilmektedir. Hidroksiprolini bu konuda önemli yapan özelliğinin ise hidrojen bağı kurabilmesi olduğu belirtilmektedir. Prolin + hidroksiprolin miktarı, geniş oranda kollajenin termal stabilitesini belirlediği için bu imino asitlerin miktar ve dağılımı, jelatinin jelleşme özelliğini belirleyen en önemli unsur olarak gösterilmektedir. Örneğin düşük prolin+hidroksiprolin miktarına sahip balık derisi jelatini, aynı molekül ağırlığındaki sıcakkanlı bir memeli jelatinine kıyasla daha zayıf bir jelleşme göstermektedir [11].

Tablo 1. Kollajen ve jelatinin aminoasit dağılımı (%) [11].

Aminoasit	Tip I kollajen (sığır)	A tip jelatin ¹	B tip jelatin ²
Alanin	11.37	11.17	11.72
Arjinin	5.08	4.89	4.81
Asparajin	1.60	1.60	-
Aspartik asit	2.89	2.89	4.61
Glutamin	4.79	4.79	-
Glutamik asit	2.49	2.49	7.21
Glisin	33.10	32.90	33.57
Histidin	0.40	0.40	0.40
4-Hidroksiprolin	10.37	9.07	9.32
Hidroksilislin	0.50	0.60	0.40
İzolösin	1.10	1.00	1.10
Lösin	2.39	2.39	2.40
Lisin	2.79	2.69	2.81
Metionin	0.60	0.40	0.40
Fenilalanin	1.30	1.40	1.40
Prolin	11.47	13.16	12.42
Serin	3.49	3.49	3.31
Treonin	1.69	1.79	1.80
Tirozin	0.40	0.30	0.10
Valin	2.19	2.59	2.20

¹: Asit hidroliz ile domuz derisinden üretilmiş; ²: Alkali hidroliz ile kemikten üretilmiş

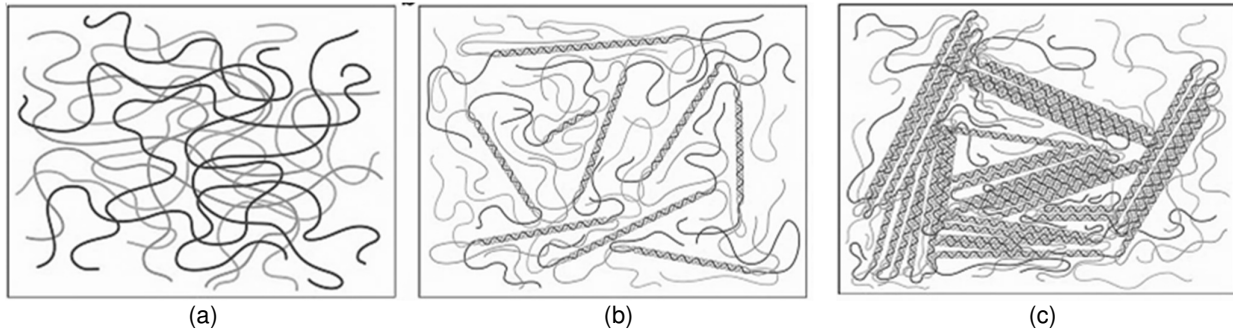
Tablo 2. Farklı vücut sıcaklıklarına sahip hayvanların prolin+hidroksiprolin oranları ve tropokollajen ergime sıcaklıkları [9].

Jelatin kaynağı	1.000 aminoasitteki (Prolin + Hidroksiprolin) sayısı	Ergime Sıcaklığı Tm (°C)	Hayvan Vücut Sıcaklığı (°C)
Dana derisi	232	39	37
Köpek balığı derisi	191	29	24-28
Morina balığı derisi	155	16	0-14

Jelatinin Jel Yapısı

Jelatin solüsyonu, 35-40°C'nin altında soğutulduğunda, jelatin molekülleri sonsuz sayıda geçici konfigürasyonlar oluşturmaktadır. Rastgele dağılık bukleler halinde bulunan jelatin molekülleri kümelenerek heliks bir yapı oluşturmak üzere tekrar bir araya gelmekte ve düzenli bir hal almaktadır [13]. Jelatinin soğuması ile oluşan jel

yapısı Şekil 2'de gösterilmektedir. Jelatin solüsyonunun soğutulmasıyla oluşan bu düzenli yapı jelatinin berrak ve saydam olan jel yapısıdır. Birçok protein ve polisakarit jellerinin aksine jelatin jelleri ısı etkisiyle geri dönüşümlüdür. Bu özellik, jelatin jelinin ağızda kolayca erimesini sağlayarak, onu gıda katkıları arasında benzersiz bir konuma getirmektedir.



Şekil 2. Farklı sıcaklıklardaki jelatin jellerinin şematik gösterimi: a) amorf bukleler b) üçlü heliksler ve bukleler c) üçlü heliks ve bukle yığılıları [14].

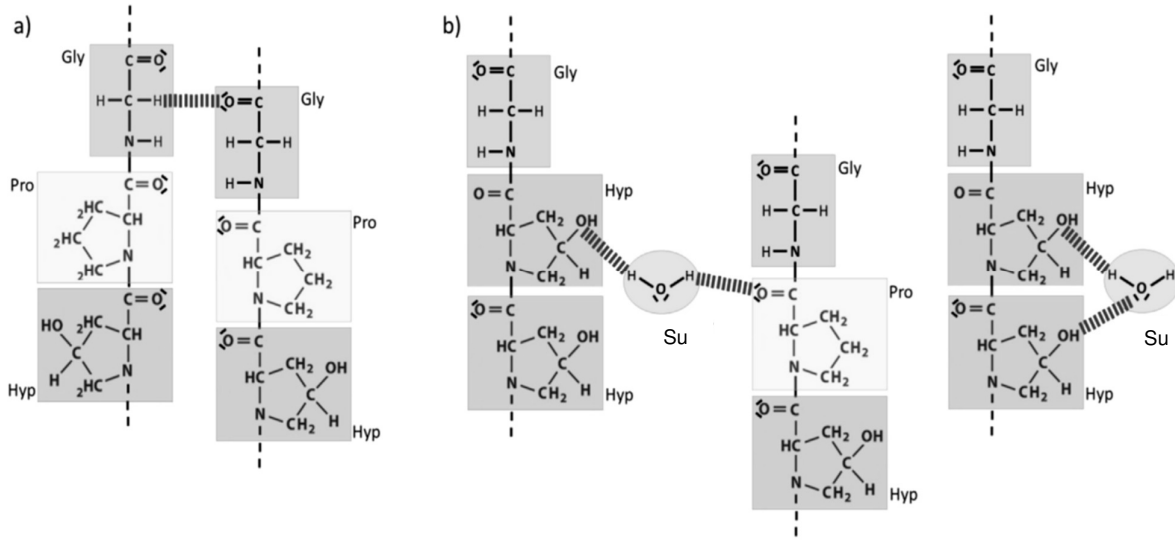
Oluşan jelin çekirdeğini, heliks yapıdaki moleküller arası ve molekül içi interaksiyonlar oluşturmaktadır. Çekirdeklenme oranı ise sıcaklığa ve polimer konsantrasyonuna bağlı olmaktadır. Jelin ağ yapısı, polimer zincirler birden fazla bağlantı bölgesi oluşturduğunda ve oluşan üçlü helikslerin de birbirlerine bağlanmasıyla meydana gelmektedir. Daha sonra üçlü

heliksler, tropokollajen yapıya benzer şekilde fibriller bir yapının içinde sarmalanmakta, fakat tropokollojen kadar kararlı olmamaktadır. Çünkü bu fibriller jel yapısı, dinamik ve sürekli kopup sonra tekrar birbirine bağlanan zayıf polimer-polimer arası interaksiyonlardan oluşturmaktadır [13]. Alt ünitelerin birbirine kimyasal kovalent bağlarla bağlı olduğu kimyasal jellerin aksine jelatin

jelleri fiziksel jeller olup bunları oluşturanlar genelde fiziksel etkileşimlerdir. Bu etkileşimler ise genelde van der Waals güçleri ve hidrojen bağlarıdır (Şekil 3) [5]. Geçen süre ile jel daha stabil bir hal almaktadır [15]. Jelatinde prolin+hidroksiprolince zengin bölgeler, jelleşme sırasında potansiyel bağlantı bölgelerinin merkezini oluşturmaktadır. Bu bağlantı bölgeleri, zincir moleküller arası hidrojen bağları ile stabilize olmakta ve 35-40°C'de sıcaklığa duyarlı hale gelmektedir. Bu nedenle jelatin jelleri bu sıcaklıklarda erimeye başlamaktadır. Birçok araştırma, oluşmuş jel ağ yapısının ısıtılıp soğutulduğunda sürekli olarak yeniden organize olduğunu ve bir önceki yapının aynı olmadığını göstermiştir. Aynı sıcaklıkta jelatin jel

kuvvetinin zamanla yükseldiği ve bir süre sonra bir dengeye ulaştığı belirtilmektedir [11].

Konsantre jeller, seyreltik olanlara kıyasla daha çabuk jelleşmekte, düşük konsantrasyonlarda, tek bir zincirden, jel yapının oluşmasına yetecek kadar bağlantı bölgeleri oluşmamaktadır. Konsantrasyonun artmasıyla iki veya daha fazla zincir bu oluşuma katılabilmekte ve dolayısıyla bağlantı bölgesi artmaktadır. Jelatin jel kuvveti, konsantrasyona, prolin+hidroksiprolin kalıntılarının dağılımına, molekül büyüklük ve şekillerine bağlı olmakla beraber pH 4-10 aralığında pH'dan bağımsız olduğu, bu aralığın dışında ise jelatin jellerinin inhibe olduğu bildirilmektedir [11].



Şekil 3. Jelatin zincirleri arasındaki (a) ve jelatin-su molekülleri arasındaki (b) hidrojen bağları (kesikli çizgiler) [8].

JELATİN ÜRETİMİ

Jelatin üretimi temizleme, ön işlem, ekstraksiyon, filtrasyon, konsantrasyon/evaporasyon, sterilizasyon ve kurutma aşamalarından oluşmakla beraber jelatinin kalite ve verimini belirleyen en önemli basamakların ön işlem ve ekstaksiyon olduğu belirtilmektedir. Temizleme aşamasında, domuz ve sığır derisi suyla yıkanmaktadır. Kemikler ise parçalandıktan sonra %4-7'lik HCl çözeltisi içinde en az 2 gün tutulmakta ve böylece kalsiyum karbonat gibi mineraller uzaklaştırılarak "ossein" olarak bilinen süngersi yapıdaki kemik materyali elde edilmektedir.

İkinci aşama olan ön işlemde uygulanacak yöntem (asidik veya bazik muamele); son üründe istenen jelatin kalitesine, materyale, materyaldeki çapraz bağ miktarına ve hayvanın yaşına göre belirlenmektedir. Bu aşamada hayvanın yaşı, elde edilecek jelatin kalitesini ve verimini etkileyen belirleyici bir faktördür. Seyreltik asit ile kısa süreli ılımlı muamele, düşük oranda çapraz bağ içeren genç hayvanların kollajenine uygulanmakta ve sonuçta A tipi jelatin elde edilmektedir. Buna karşın derişik bazik çözelti içerisinde daha kuvvetli bir uygulama, yüksek çapraz bağları olan yaşlı hayvansal kaynaklara

uygulanmakta ve sonuçta B tipi jelatin elde edilmektedir [1, 16].

Üçüncü aşama olan ekstraksiyon prosesi asidik veya nötr koşullarda yapılmaktadır. Alkali ön işlem görmüş materyal genelde nötr veya hafif asidik ortamda (pH 5.0-6.5) ekstrakte edilmektedir. Endüstriyel olarak ilk ekstraksiyon sıcaklığı 50°C'de başlamakta ve 10'ar derece artırılarak kademe kademe sıcaklık 100°C'e kadar yükseltilmektedir. Her kademe ortalama 4-7 saat sürmektedir. Uygulanan ilk sıcaklık, kollajenin denatürasyon sıcaklığının üzerindedir. Burada hidrojen bağları kopmakta ve bu süreç kollajenin çözünür jelatine dönüşümü ile sonuçlanmaktadır. Elde edilen ilk fraksiyon, hidrojen bağlarının sıcaklık etkisi ile kopması sonucu jelatinin dışa erimesi şeklinde; daha sonraki fraksiyonlar ise daha yüksek sıcaklıkların ve ortam pH'sının bir sonucu olarak gerçekleşmektedir. Ekstraksiyon her aşamasından sonra daha zayıf jelleşen ve daha koyu renkli jelatin elde edilmektedir. Asidik ön işlem görmüş domuz derisi gibi materyallerde ekstraksiyon, pH 4-5 arasında; sığır derisi ve osseini gibi materyallerde ise pH 2.0-3.5 gibi asidik çözeltilerde uygulanmaktadır. Jelatinde meydana gelebilecek arzu edilmeyen hidrolizleri önlemek için "sıcaklık - pH -

ekstraksiyon süresi” faktörleri arasında optimum bir denge kurulmaktadır [1, 16].

Ekstraksiyon işleminden sonra yaklaşık % 2-4 oranında jelatin içeren çözeltiler yağ ve diğer süspansel halindeki kirlilik unsurlarından arındırılmak amacıyla filtre edilmekte [11], bu aşamada aktif kömür katılarak renk açılabilir. Daha sonra jelatin ekstraktı evaporasyon işlemi ile belirli bir viskoziteye ulaşıncaya kadar konsantre edilmektedir. Bu işlemde nem miktarı; yüksek kalitede jelatin hedefleniyorsa %20-25 civarına; daha düşük kaliteli jelatinlerde ise %40 civarına kadar düşürülmektedir. Bunun, su varlığında ısı etkisiyle hidrolizin artmasından dolayı uygulandığı bildirilmektedir. Sterilizasyon işlemi plakalı ısı değiştiriciler kullanılarak veya doğrudan buhar sterilizasyonu tekniği kullanılarak iki farklı yolla gerçekleştirilmektedir. Sterilizasyondan sonra jelatin solüsyonu soğutulmuş jel haline getirilmektedir [3]. Son olarak kurutma aşamasında koyulaştırılmış ve jel haline getirilmiş jelatin geniş ve uzun konveyörlerde hava ile [11] veya ekstrüderlerde kurutulmuş yaprak, granül veya toz haline getirilmektedir. Kurutmada kullanılacak havanın başlangıç sıcaklığı yaklaşık 30°C olmaktadır. Kurutulmuş jelatin şeritleri öğütülerek her birinin çapı, 0.1 ile 10 mm arasında değişen granül taneleri haline getirilmektedir. Ticari olarak üretilip piyasaya sürülen jelatinlerin nem içeriği %8 ile 12 arasında değişmektedir [3].

JELATİNİN FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Jelatinin izoelektrik Noktası

Jelatinin aminoasit kompozisyonu, alkali ile ön işlem yapılmış ise kollajenin aminoasit kompozisyonundan farklı olmaktadır. Alkali muamelede iyonize olmamış glutamin ve asparajin aminoasit kalıntıları karboksil gruplarına dönüşerek amonyak açığa çıkmakta ve jelatin asidik bir karakter kazanmaktadır. Bu nedenle asit ön işlem görmüş jelatinin izoelektrik noktası 7.0-9.4 arasında iken alkali ön işlem görmüş jelatinin izoelektrik noktası 4.8-5.5 arasında olmaktadır [11].

Jelatinin Moleküler Ağırlık Dağılımı

Elde edilen jelatin, farklı moleküler ağırlıklarına sahip polipeptit zincirlerden oluşmaktadır. Moleküler ağırlık dağılımı, kaynaktaki moleküller arası ve içi kovalent bağlara, jelatinde hidroliz olmadan kalmış polipeptitlerdeki çapraz bağlara ve polipeptit zincirlerin uzunluğuna göre değişmektedir. α -Zincirler arasındaki kovalent bağlar, jelatin üretimi sırasında bozulmadan kalabilmekte, böylece iki α -zincirinden oluşan β -zincirinin, üç α -zincirinden oluşan γ -zincirinin ve üçten fazla α -zincirinin kovalent bağlarla oluşturduğu yüksek ağırlıktaki moleküller jelatinde bulunabilmektedir. Ayrıca kimyasal ön işlem ve ekstraksiyon sırasında primer yapıdaki peptid bağları az da olsa kopabilmekte ve α -zincirinin alt üniteleri de ortamda bulunabilmektedir [1, 16]. Jelatinde bulunan “ γ ” zincirleri 230.000-340.000 dalton aralığında, “ β ” zincirleri 123.000-230.000 dalton arasında ve “ α ” zinciri ise 80.000-125.000 dalton arasında olmaktadır. Bu fraksiyonlar dışında daha düşük

moleküler ağırlığına sahip α -zincirinin alt üniteleri de ortamda bulunabilmektedir. Bunlar ünite-1 (49.999-80.000 dalton), ünite-2 (35.000-49.000 dalton), ünite-3 (25.000-35.000 dalton) ve ünite-4 (10.000-25.000 dalton) aralıklarında ortamda bulunabilmektedir. Bu fraksiyonlar şekil ve büyüklük açısından heterojen bir şekilde bulunmaktadır. 150 bloom sertliğindeki alkali ön işlem görmüş bir kemik jelatininin, %16.5 γ zinciri, %12.2 β zinciri, % 32.4 α zinciri ve yaklaşık % 38.5 oranında α alt birimlerini yapısında bulundurduğu bildirilmiştir [11].

Yapılan çalışmalar, moleküler ağırlık dağılımının jelatinin bloom değerini, viskozitesini ve erime/jelleşme sıcaklık değerlerini etkilediğini göstermektedir. Yüksek moleküler ağırlığındaki fraksiyonlar, yüksek viskozite ve jel kuvvetinin belirleyicisi olarak gösterilmektedir. Bu iki özellik; toplam α , β ve daha yüksek moleküler ağırlığındaki fraksiyonların oranı ile iyi bir korelasyon göstermektedir [11].

Jel Kuvveti (Bloom)

Bloom değeri, jelatin jel sertliğinin veya direncinin bir ifadesi olup endüstriyel olarak jelatinin sınıflandırılmasına yarayan en önemli kalite özelliği olarak gösterilmektedir. Jelatinin bloom değeri arttıkça pazar değeri de yükselmektedir [17]. Bloom değeri, tekstür analiz cihazında ölçümü yapılan; 12.7 mm çapında ve düz tabanlı olan bir silindirin jel üzerinde 4 mm derinliğe inmesi için gerekli ağırlık olarak tanımlanmaktadır. Bloom ölçümü için %6.67 (w/w) konsantrasyonundaki jelatin solüsyonu hazırlanmaktadır. Karışım 60°C’de homojen hale gelene kadar karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmekte ve 10°C’de 16-18 saat süreyle jel oluşumu sağlanmaktadır. Bloom değeri olarak 150’den küçük olanlar düşük, 150-220 arasında olanlar orta ve 220’den yüksek olanlar ise yüksek bloom değerli jelatin olarak değerlendirilmektedir. Sanayide genelde 250-260 bloom arasında olan jelatinler tercih edilmektedir [18].

Jelatinin mekanik özelliklerinin, ortalama moleküler ağırlığına ve moleküler ağırlık dağılımına bağlı olduğu; bunu da büyük oranda uygulanan ön işlem ve ekstraksiyon proseslerinin belirlediği belirtilmektedir. Termal enerjinin yanı sıra uygulanan asit veya alkali işlemler de farklı kollajen fragmentleri oluşmasına neden olmaktadır. Uygulanan kimyasal işlemler ılımlı koşullarda ise yüksek bloom değerinde jelatin, aksine yüksek sıcaklık ve uzun süren bir işlem ise, polipeptid zincirlerin hidrolizi nedeniyle daha düşük bloom değerinde jelatin elde edilmektedir [19]. Jel gücü veya sertliğinin, bir α -zincirinin moleküler ağırlığı olan ~100 kDa civarındaki fraksiyonların oranına bağlı olduğu ve bunun solüsyondaki α -zinciri miktarı ile doğru orantılı olduğu belirtilmektedir [20, 15]. Eysturskarð ve ark. [21]’nin yaptıkları bir çalışmada asit ile ön işlem görmüş domuz derisi jelatini, kireçle ön işlem görmüş kemik jelatini ve farklı türlerde soğuk su balığı derilerinden elde edilmiş jelatinler karşılaştırılmıştır. Tüm jelatin örneklerinde moleküler ağırlık ortalamasının artmasıyla bloom değerinin de yükseldiği görülmüştür. Bu çalışmada düşük ağırlıktaki moleküllerin uzaklaştırılması ile jelatinin

mekaniksel özelliklerinin arttırılabileceği öne sürülmüştür. Düşük molekül ağırlığındaki jelatin fraksiyonlarının, heliks yapıya dâhil olarak yüksek molekülleri bloke ettiği dolayısıyla fonksiyonel ağ yapısının oluşumunu bozduğu öne sürülmüştür. Eysturskard ve ark. [19]'nın yaptıkları çalışmada domuz derisi jelatini (Tip A), sığır kemik jelatini (tip B) ve soğuk su balığı jelatinlerinin içerdikleri α -zincir, β -zincir, yüksek molekül ağırlığı ve düşük molekül ağırlığındaki fraksiyonlar belirlenmiştir. Araştırma neticesinde memeli hayvanlardan elde edilen jelatinlerin bloom değerleri ile içerdikleri α -zincirler, β -zincirler ve yüksek ağırlıktaki moleküller arasında pozitif bir korelasyon olduğu; buna karşın 100 kDa altındaki düşük molekül ağırlığındaki fraksiyonlar ile negatif bir korelasyon bulunduğu tespit edilmiştir. Nagarajan ve ark. [22]'nin yaptıkları bir çalışmada farklı ekstraksiyon sıcaklıklarında (50, 60, 70 ve 80°C) elde edilen mürekkepbalığı derisi jelatinleri karşılaştırılmıştır. Burada jelatinlerin bloom değerleri sırasıyla 132, 122, 116 ve 85 olarak tespit edilmiştir. Sıcaklığın artmasıyla bloom değerinde belirgin bir düşüş gözlenmiş, bunun da molekül ağırlık dağılımından kaynaklandığı vurgulanmıştır.

Jelatinin bloom değeri; aminoasit dağılımı ve içerdiği prolin + hidroksiprolin aminoasit miktarlarına bağlı olarak elde edildiği kollajenin kaynağına göre de değişmektedir. Buna örnek olarak balık jelatinleri gösterilmekte, balık derisinin hidroksiprolin oranının düşük olması nedeniyle bloom değerinin de düşük olduğu belirtilmektedir. Kollajenin yapısındaki üçlü heliksin stabilitesinden prolin ve hidroksiprolinin sorumlu olduğu; bunu da hidroksiprolinin hidroksil grupları ve serbest su molekülleri arasındaki hidrojen bağları vasıtasıyla oluştuğu bildirilmektedir [18, 23]. Balık jelatinlerinin hidroksiprolin oranının (yaklaşık %7-10), memeli jelatinine (yaklaşık %14) kıyasla daha düşük olduğu bildirilmektedir [24]. Balık jelatinleri içerisinde yüksek bloom değerinin; genelde sıcak su balıklarında olduğu bildirilmektedir [25]. Soğuk su balıklarından elde edilen jelatinlerin düşük bloom değerinde olduğu, oda sıcaklığında jel oluşturmadıkları, düşük sıcaklıklarda yumuşak ve stabil olmayan jeller oluşturdukları, 10°C'de dahi sıvı fazda kalabildikleri, bu nedenle gıda sektöründeki kullanımlarının çok kısıtlı olduğu belirtilmektedir [26]. Du ve ark.'nın [27] hindi ve tavuk kafalarından jelatin ekstrakte ettikleri bir çalışmada hindi kafalarından elde edilen jelatinlerin bloom değerinin, tavuğa kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sarbon ve ark.'nın [17] yaptıkları çalışmada tavuk derisinden elde edilen jelatin ile sığır derisinden elde edilen jelatinin karşılaştırılmış, bu çalışmada tavuk jelatininin (355 +/- 1.48 g) bloom değeri bakımından sığır jelatininden (229 +/- 0.71g) daha yüksek olduğu görülmüştür.

Viskozite

Viskozite, jelatinin en önemli ikinci kalite özelliği olarak erime sıcaklığı üzerindeki sıcaklıklarda belirlenmektedir. Standart olarak viskozite, 60°C sıcaklıkta ve %6.67 konsantrasyonunda 100 mL jelatin solüsyonunun U-tüp viskozimetredeki akış süresi hesaplanarak belirlenmektedir [11]. Diğer taraftan viskozite, döner

viskozimetre, reometre veya diğer benzeri cihazlar kullanılarak farklı sıcaklık ve konsantrasyonlarda ölçülebilmektedir. Gıda sektöründe stabilizatör olarak kullanılan jelatinin genellikle yüksek viskoziteye sahip olması istenmektedir. Fakat şekerleme gibi gıda ürünlerinde ise düşük viskoziteli jelatinler tercih edilmektedir [1]. Jelatin solüsyonunun viskozitesi, jelatin molekülleri arasındaki hidrodinamik etkileşimlere bağlı olmaktadır. Piyasada bulunan jelatinlerin viskoziteleri 2-7 cP arasında değişmekte olup bazı özel üretim jelatinlerin 13 cP olabildiği bildirilmektedir. Düşük viskoziteye sahip jelatin jellerinin zayıf ve yumuşak olduğu, yüksek viskoziteli jelatinlerin ise sert ve daha esnek olduğu bildirilmektedir [15].

Jelatin üretimi sırasındaki kimyasal ön işlemde kullanılan asit veya alkali konsantrasyonunun viskoziteyi etkilediği belirtilmektedir. Bu aşamada uygulanan asit ön işlem görmüş jelatinin, aynı molekül ağırlığındaki alkali ön işlem görmüş jelatinden daha düşük bir viskoziteye sahip olduğu da bildirilmektedir. Bu farklılık; asit uygulaması ile elde edilmiş jelatinlerin, alkali jelatine kıyasla daha az dallı yapı göstermesine bağlanmaktadır [11]. Boran ve ark.[28] gümüş balığı derisinden elde ettikleri jelatinlerde, ön işlem aşamasında asit konsantrasyonu düşük olan (0.1 N HCl) örneklerin yüksek viskozite (4.8; 4.7 ve 7.0 cP) değeri, asit konsantrasyonu yüksek olan örneklerde (1 N HCl) ise düşük viskozite (2.7, 2.2 ve 2.6 cP) gösterdiklerini tespit etmişlerdir. Sonuçta viskozite karakteristiği bakımından ön işlem aşamasında asit konsantrasyonu arttıkça viskozitenin belirgin şekilde düştüğü bildirilmiştir.

Jelatinin viskozitesini etkileyen bir diğer faktörün moleküler ağırlık kompozisyonu olduğu bildirilmektedir [29]. Jelatinde bulunan β ve γ zincirlerinin jelatin viskozitesini ve erime - jelleşme sıcaklıklarını önemli ölçüde belirlediği, moleküler ağırlık ortalamasının yükselmesiyle viskozitenin de arttığı bildirilmektedir [5]. Dolayısıyla ekstraksiyon işleminin sıcaklık derecesi ve süresi, jelatinin molekül ağırlık dağılımını ve beraberinde viskozite gibi tüm fiziksel özelliklerini de etkilemektedir [30].

Erime ve Jelleşme Sıcaklığı

Jelleşme noktası, jelatin solüsyonunun jel haline geldiği sıcaklık olarak; erime noktası ise bunun tam tersi; jelatin jelinin solüsyon haline geldiği sıcaklık olarak belirtilmektedir. Erime ve jelleşme sıcaklıkları, özellikle ilaç kapsülü üretiminde olmak üzere birçok uygulamada önemli bir kalite kriteri olarak bildirilmekte, bu nedenle jelatin üretim optimizasyonlarında dikkate alınmaktadır. Jelatin bloom değeri ve konsantrasyonunun artışıyla erime ve jelleşme sıcaklıklarının da arttığı bildirilmektedir [1]. Isısal geri dönüşüm özelliği sayesinde jelatin jelleri, spesifik bir sıcaklık olan erime sıcaklık noktasından itibaren erimeye başlamaktadır. Bu sıcaklık genelde insan vücut sıcaklığının altındadır. Bu özellik jelatin jellerine ağız içinde erime avantajı getirmekte ve bu avantaj gıda ve kozmetik endüstrisi tarafından etkin şekilde kullanılmaktadır. Erime ve jelleşme sıcaklığının belirlenmesi amacıyla genelde differential scanning calorimetry (DSC) [7, 31, 32] ve

reolojik analizler [7, 26, 33-35] uygulanmaktadır. DSC analizlerinde ısıtma veya soğutma sırasında oluşan termogram eğrisinin pik noktası; geçiş (transition) noktası olarak erime ve jelleşme sıcaklığı olarak belirlenmekte, diğer taraftan reolojik analizlerde ise ısıtma veya soğutma sırasında oluşan sıcaklık eğrilerinde elastik modülünün (G'), viskoz modülüne (G'') eşitlendiği nokta erime veya jelleşme noktası olarak belirlenmektedir [36]. Buna ek olarak erime ve jelleşme sıcaklıkları, farklı tipteki viskozimetreler ile de sıcaklığın kontrollü olarak artırılması veya azaltılması vasıtasıyla viskozitedeki değişim gözlenerek belirlenebilmektedir [37-39].

Jelatin erime ve jelleşme dereceleri üzerinde, kimyasal ön işlem ve termal ekstraksiyon proseslerinin bir sonucu olan molekül ağırlık dağılımının önemli bir etkisi olduğu bildirilmektedir. Eysturskarð ve ark. [19]'nın yaptıkları araştırmada, soğuk su balığı jelatinlerinde elastik modülü (G') değeri ile jelatinin içerdiği β -zincir ve yüksek molekül ağırlığındaki fraksiyonlar arasında pozitif bir korelasyon olduğu, buna karşın içerdiği düşük molekül ağırlığındaki fraksiyon oranı ve α -zincir oranı ile negatif bir korelasyon bulunduğu ortaya konmuştur.

Erime ve jelleşme derecesi üzerinde etkili bir diğer faktörün, aminoasit dağılımı ve prolin+hidroksiprolin miktarına bağlı olarak kollajenin kaynağı olduğu bildirilmiştir. Balık jelatini erime sıcaklığı, balığın çeşidine göre 11-28°C arasında, jelleşme sıcaklığı ise 8-25°C arasında değişmektedir. Genelde sıcak su balığından elde edilmiş jelatinlerin jelleşme özelliklerinin, soğuk su balığı jelatinine kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu da imino asit (prolin+hidroksiprolin) miktarının ve hidroksilasyon derecesinin yüksek oluşuna bağlanmaktadır [39]. Yapılan çeşitli çalışmalarda total 1.000 aminoasit içerisinde sığır jelatininde yaklaşık 94 hidroksiprolin ve 138 prolin, morina balığı derisi jelatininde 53 hidroksiprolin ve 102 prolin, tatlı su balığı jelatininde 70 hidroksiprolin ve 119 prolin amino asit kalıntısı olduğu bildirilmiştir [15]. Haug ve ark. [40]'nın yaptıkları araştırmada balık jelatini ile memeli jelatini erime ve jelleşme özellikleri bakımından kıyaslanmıştır. Sonuçta balık jelatininin, memeli jelatinine (jelleşme sıcaklığı 20°C) kıyasla daha düşük elastik modülüne (G'), daha düşük jelleşme sıcaklığına (4-5°C) ve daha düşük erime sıcaklığına (12-13°C) sahip olduğu görülmüştür. Bu durumun balık jelatinin içerdiği düşük miktardaki prolin ve hidroksiprolin miktarından ileri geldiği; düzenli ve stabil bir jel yapının oluşması için imino asit miktarının önemli olduğu vurgulanmıştır.

Renk

Jelatinin rengi ve saydamlığı, doğrudan tüketiciyi etkileyebilecek bir unsur olduğu için ticari ve teknik olarak önemli bir kalite özelliği olarak gösterilmektedir [27]. Jelatin üretiminde, ısıl ekstraksiyon işlemi sırasında materyali oluşturan proteinler ve az miktarda ortamda bulunan karbonhidratlar arasında Maillard reaksiyonları gerçekleşmektedir. Maillard reaksiyonlarına bağlı olarak jelatin kahverengiye yakın bir renk almakta ve bu rengin yoğunluğu uygulanan ekstraksiyon sıcaklığına ve süresine göre değişmekte;

sıcaklığın ve sürenin artışı ile renk koyuluğunun arttığı belirtilmektedir [8]. Dolayısıyla; ilk ekstrakte edilen partilerdeki jelatinin rengi berrak, buna karşın son ekstrakte edilen partilerdeki jelatinin ise koyu renkli ve koku oranının yüksek olduğu bildirilmektedir [16]. Diğer taraftan, renk parametrelerinin jelatin dış görünüş kalitesini düşürmekle beraber fonksiyonel özellikleri üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı da belirtilmektedir [27]. Hidrojen peroksit gibi oksidasyon etmenleri jelatin rengini açabilmektedir [16]. Jelatin rengi, genellikle %6.67 oranında hazırlanan jelatin solüsyonunun 60°C'de çözündürülmesi ve daha sonra 7°C'de 18 saat tutularak oluşan jelin renk cihazıyla L^* (0=siyah, 100=beyaz), a^* ($a^*>0$ kırmızı; $a^*<0$ yeşil) ve b^* ($b^*>0$ sarı; $a^*<0$ mavi) değerleri ölçülerek belirlenmektedir.

Jelatin rengini belirleyen en önemli faktörlerden birisinin ekstraksiyon sıcaklığı olduğu bildirilmiştir. Du ve ark. [27], hindi ve tavuk kafalarından farklı ekstraksiyon sıcaklıkları kullanarak elde ettikleri jelatin renklerinde önemli farklılıklar tespit etmişlerdir. Aynı materyalde 60°C'de 6 saat ekstraksiyon süresinde elde edilen jelatinin; 50°C'de 18 saat ekstraksiyon süresinde elde edilene kıyasla daha yüksek L^* değerine sahip olduğu görülmüştür. Burada ekstraksiyon süresinin artmasıyla L^* değerinin düştüğü görülmüştür. Uzatılmış ekstraksiyon periyodunun jelatindeki degradasyonu artırdığı ve Maillard reaksiyonunu destekleyerek L^* değerini düşürdüğü belirtilmiştir.

Jelatinin rengi kullanılan hayvansal materyale göre de değişmektedir. Balık jelatininin gıda sanayinde kullanımına ilişkin en büyük sorunun koyu renk olduğu belirtilmektedir [41]. Balık jelatini rengi, materyale ve kaç ekstraksiyon sonucu elde edildiğine bağlı olarak değişmektedir. Du ve ark.'nın [27] hindi ve tavuk kafalarından jelatin elde ettikleri çalışmada, tavuk jelatini L^* ve b^* değerlerinin, hindi jelatinine kıyasla daha yüksek olduğu; a^* değerinin ise daha düşük olduğu görülmüştür.

Jelatin rengi üzerinde etkili bir diğer faktörün ise ön işlem sırasında kullanılan kimyasallar ve pH olduğu, pH'nın artışıyla jelatin renginin koyulaştığı bildirilmektedir. Khiari ve ark.'nın [42] uskumru balığından elde edilen jelatin renklerinin ön işlem aşamasında kullanılan farklı organik asitlerden etkilendiği tespit edilmiştir. Aynı konsantrasyonlardaki farklı organik asitler ile hidroliz edildikten sonra ekstrakte edilen jelatinlerin L^* ve a^* değerleri birbirine yakın bulunurken asetik asit kullanılan jelatinlerin b^* değerlerinin yüksek olduğu ve sarı rengin arttığı tespit edilmiştir. Bunun asetik asit solüsyonunun pH'sının diğerlerine kıyasla daha yüksek olmasından kaynaklandığı ve dolayısıyla pH'nın artmasıyla jelatin renginin koyulaştığı sonucuna varılmıştır.

Jelatinin Diğer Özellikleri

Sanayide kullanılan jelatinin yukarıda bahsedilen özellikleri dışında arsenik miktarının maksimum 1 ppm, ağır metal toplamının maksimum 50 ppm, sülfür dioksit içeriğinin maksimum 200 ppm, peroksit (H_2O_2) kalıntısının maksimum 100 ppm olması gerektiği bildirilmektedir. Ayrıca fenolik koruyucu madde

içermemesi, toplam kül ve su oranının ise sırasıyla maksimum %2 ve %15 olması gerektiği belirtilmektedir [11].

SONUÇ

Dünya nüfusunun hızlı artışı; doğal kaynakların yetersiz kalması ve çevre kirliliği gibi bir takım global sorunları ortaya çıkarmakta olup bunların çözümüne ilişkin bir takım yeni arayışları da gündeme getirmektedir. Bu sorunlardan belki en önemlisi mevcut doğal kaynakların azalması ve bunların optimum düzeyde kullanılmamasıdır. Günümüzde bile birçok ülkede hayvansal üretim atıklarının değerlendirilmeden çevreye bırakıldığı, gelişmiş ülkelerde ise en iyi ihtimalle hayvansal yem olarak değerlendirildiği düşünüldüğünde deri ve kemik gibi hayvansal atıklardan elde edilen jelatinin, bu derlemede bahsedilen birçok fonksiyonel ve teknolojik avantajları düşünüldüğünde önemli bir katma değer oluşturma potansiyeline sahip olduğu görülmektedir. Bu nedenle günümüze kadar jelatin, domuz ve sığır gibi hayvansal yan ürünlerden elde edilmesine karşın son yıllarda balık ve kanatlı sanayi yan ürünleri de bu amaçla değerlendirilmeye çalışılmış, yapılan araştırmalar bu konu üzerine yoğunlaşmaya başlamıştır. Diğer taraftan, son yıllarda çevre kirliliğinin azaltılmasına yönelik yoğun çabalar düşünüldüğünde, hayvansal atıkların çevreye atılması yerine bunlardan jelatin üretilmesi, hem proses açısından kolay olması hem de jelatinin gidadan kozmetiğe ve ilaç sanayine kadar birçok farklı sektörde kullanılabilmesi bakımından önemli bir fırsat olarak görülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Schrieber, R., Gareis, H., 2007. Gelatin Handbook. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim, 331 p.
- [2] Karim, A.A., Bhat, R., 2008. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. *Trends in Food Science & Technology* 644-656.
- [3] Yetim, H., 2011. Jelatin üretimi, özellikleri ve kullanımı: Sözlü bildiri 1.Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, 19-20 Kasım 2011, 86-94.
- [4] Anonymous, 2013. http://www.nutraceuticals-world.com/contents/view_breaking-news/2013-07-15/globalgelatinmarketprojectedtoreach279billionin2018. (Erişim Tarihi: 23.05.2016).
- [5] Karim, A.A., Bhat, R., 2009. Fish gelatin: Properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids* 23: 563-576.
- [6] Gomez-Guillen, M.C., Perez-Mateos, M, Gomez-Estaca, J., Lopez-Cballero, E., Gimenez, B., Montero, M.P., 2009. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Science & Technology* 3-16.
- [7] Cheow, C.S., Norizah, M.S., Kyaw, Z.Y., Howell, N.K., 2007. Preparation and characterisation of gelatins from the skins of sin croaker (*Johnius dussumieri*) and shortfin scad (*Decapterus macrosoma*). *Food Chem* 101: 386-391.
- [8] Duconseille, A., Astruc, T., Quintana, N., Meersman, F., Sante-Lhoutellier, V., 2015. Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review. *Food Hydrocolloids* 43: 360-376.
- [9] Gözükar, E.M., 2001. Biyokimya, dördüncü baskı. Cilt 1, Nobel Tıp Kitabevleri, Syf.166.
- [10] Nelson, D.L., Cox, M.M., 2005. Lehninger: Biyokimyanın İlkeleri. Çeviri Editörü: Prof. Dr. Nedret Kılıç. Palme Yayıncılık. Syf 173-174. ISBN:975-8982-18-4.
- [11] Ledward, D.A., 2000. Handbook of hydrocolloids, Chapter-4, Edited by G. O. Philips and P. A. Williams. UK. Woodhead Publishing in Food Science and Technology, 450p.
- [12] Fratzl, P., 2008. Collagen Structure and Mechanics. Chapter:1 Edited by Fratzl, P. (Collagen: Structure and Mechanics, an Introduction). Springer Science+Business Media, LLC, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA, e-ISBN: 978-0-387-73906-9, 505 p
- [13] Tosh, S.M., Marangoni, A.G., Hallett, F.R., Britt, I.J., 2003. Aging dynamics in gelatin gel microstructure. *Food Hydrocolloid* 17: 503-513.
- [14] Coppola, M., Djabourov, M., Ferrand, M., 2012. Unified phase diagram of gelatin films plasticized by hydrogen bonded liquids. *Polymer* 53: 1483-1493.
- [15] Karayannakidis, P.D., Zotos, A., 2014. Fish processing byproducts as a potential source of gelatin: A review. *Journal of Aquatic Food Product Technology* DOI: 10.1080/10498850.2013.827767.
- [16] Eysturskarð, J., 2010a. Mechanical Properties of Gelatin Gels; Effect of Molecular Weight and Molecular Weight Distribution. Doctoral thesis for the degree of Philosophiae Department of Biotechnology. Faculty of Natural Science and Technology at Norwegian University, 43 p.
- [17] Sarbon, N.M., Badii, F., Howell, N.K., 2013. Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. *Food Hydrocolloids* 30: 143-151.
- [18] Badii, F., Howell, N.K., 2006. Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. *Food Hydrocolloids* 20: 630-640.
- [19] Eysturskarð, J., Haug, I.J., Ulset, A., Joensen, H., Draget, K.I., 2010b. Mechanical properties of mammalian and fish gelatins as a function of the contents of α -chain, β -chain, and low and high molecular weight fractions. *Food Biophysics* 5: 9-16.
- [20] Liu, H.Y., Li, D., Guo, S.D., 2008. Rheological properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) gelatin from fish skins preserved by different methods. *Lebensm. Wiss. Technol* 41: 1425-1430.
- [21] Eysturskarð, J., Haug, I.J., Ulset, A., Draget, K.I., 2009. Mechanical properties of mammalian and fish gelatins based on their weight average molecular weight and molecular weight distribution. *Food Hydrocolloids* 23: 2315-2321.
- [22] Nagarajan, M., Benjakul, S., Prodpran, T., Songtipya, P., Kishimura, H., 2012. Characteristics and functional properties of gelatin from splendid

- squid (*Loligo formosana*) skin as affected by extraction temperatures. *Food Hydrocolloids* 29: 389-397.
- [23] Fernandez-Diaz, M.D., Gomez-Guillen, M.C., Montero, P., 2003. Effect of freezing fish skin on molecular and rheological properties of extracted gelatin. *Food Hydrocolloids* 17: 281-286
- [24] Nalinanon, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kishimura, H., 2008. Improvement of gelatin extraction from bigeye snapper skin using pepsin-aided process in combination with protease inhibitor. *Food Hydrocolloids* 22: 615-622.
- [25] Kasankala, L.M., Xue, Y., Weilong, Y., Hong, S.D., He, Q., 2007. Optimization of gelatin extraction from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology. *Bioresource Technol* 98: 3338-3343.
- [26] Giménez, B., Gómez-Guillén, M.C., Montero, P., 2005. Storage of fish skins on quality characteristics of extracted gelatin. *Food Hydrocolloid* 19: 958-963.
- [27] Du, L., Khiari, Z., Pietrasik, Z., Betti, M., 2013. Physicochemical and functional properties of gelatins extracted from turkey and chicken heads. *Poultry Science* 92: 2463-2474
- [28] Boran, G., Lawless, H.T., Regenstein J.M., 2010. Effects of extraction conditions on the sensory and instrumental characteristics of fish gelatin gels. *Journal of Food Science* 75(9): 469-476.
- [29] Jamilah, B., 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.
- [30] Uriarte-Montoya, M.H., Santacruz-Ortega, H., Cinco-Moroyoqui, F.J., Rouzaud-Sáñez, O., Plascencia-Jatomea, M., Ezquerro-Brauer, J.M., 2011. Giant squid skin gelatin: Chemical composition and biophysical characterization. *Food Research International* 44: 3243-3249.
- [31] Norziah, M.H., Al-Hassan, A., Khairulnizam, A.B., Mordi, M.N., Norita, M., 2009. Characterization of fish gelatin from surimi processing wastes: thermal analysis and effect of transglutaminase on gel properties. *Food Hydrocolloid* 23: 1610-1616.
- [32] Rahman, M.S., Al-Saidi, G.S., Guizani, N., 2008. Thermal characterisation of gelatin extracted from yellowfin tuna skin and mammalian gelatin. *Food Chem* 108: 472-481.
- [33] Gómez-Guillén, M.C., Giménez, B., Montero, P., 2005. Extraction of gelatin from fish skins by high pressure treatment. *Food Hydrocolloid* 19: 923-928.
- [34] Sarabia, A.I., Gómez-Guillén, M.C., Montero, P., 2000. The effect of added salts on the viscoelastic properties of fish skin gelatin. *Food Chem* 70: 71-76.
- [35] Cho, S.M., Gu, Y.S., Kim, S.B., 2005. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloid* 19: 221-229.
- [36] Nikoo, M., Xu, X., Benjakul, S., Xu, G., Ramírez-Suárez, J.C., Ehsani, A., Kasankala, L.M., Duan, X., Abbas, S., 2011. Characterization of gelatin from the skin of farmed *Amur sturgeon* *Acipenser schrenckii*. *Int. Aquat. Res.* 3: 135-145.
- [37] Arnesen, J.A., Gildberg, A., 2002. Preparation and characterisation of gelatine from the skin of harp seal (*Phoca groenlandica*). *Bioresource Technol.* 82: 191-194.
- [38] Pati, F., Adhikari, B., Santanu, D., 2010. Isolation of fish scale collagen of higher thermal stability. *Bioresource Technol.* 101: 3737-3742.
- [39] Avena-Bustillos, C.W., Olsen, D.A., Chiou, B., Yee, E., Bechtel, P.J., McHugh, T.H., 2006. Water vapor permeability of mammalian and fish gelatin films. *J. Food Sci.* 71: 202-207.
- [40] Haug, I.J., Draget, K.I., Smidsrød, O., 2004. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. *Food Hydrocolloid* 18: 203-213.
- [41] Wasswa, J., Tang, J., Gu, X., 2007. Utilization of fish processing byproducts in the gelatin industry. *Food Rev. Int.* 23: 159-174.
- [42] Khiari, Z., Rico, D., Martin-Diana, A.B., Barry-Ryan, C., 2011. The extraction of gelatine from Mackerel (*Scomber scombrus*) heads with the use of different organic acids. *Journal of Fisheries Sciences* 5(1): 52-63.