

**Su Ürünleri Atıklarının Doğal Laktik Asit Bakterileri ile
Fermentasyonu Sonucu Biyodönüşümü; Fermentasyon
Ürünlerinin Kalitesi ve Hayvan Beslenmesinde Kullanılabilirliği**

Program Kodu: 1001
Proje No: 213O166

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Gülsün ÖZYURT

Araştırmacı(lar):

Prof. Dr. Yeşim ÖZOĞUL
Doç.Dr. Esmeray Küley BOĞA
Doç.Dr. Mustafa BOĞA

Bursiyer(ler):

Mustafa DURMUŞ
Merve ERGÜVEN
Muzaffer PERKER
İlyas ÖZOĞUL
Volkan Barış KIYAĞA

ŞUBAT 2016
ADANA

ÖNSÖZ

Atık ürünlerin endüstriyel ürünlere biyodönüşümü ile ilgili uygun metotların gelişimi gün geçtikçe daha büyük önem kazanmaktadır. Atık materyal içerisinde bulunan biyomasın endüstriyel ürünlere dönüşümünde laktik asit bakterilerinin kullanımı önemli biyolojik metotlar arasında yer alır. Depolama sırasında kararlı olan, kötü koku ve tat içermeyen, balığın besinsel özelliğini taşıyan yeni ürünlerin gelişimi, balık silajı gibi balığa dayalı gıdaların uygulama alanlarını artırmıştır. Bu balık ürünlerini üretmede kullanılan en iyi teknik laktik asit bakterilerinin kullanımıdır. Laktik asit bakterileri patojen ve bozulma etmeni bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitelere sahiptir. Bu bakteriler tarafından üretilen metabolik yan ürünler ürünün raf ömrünü artırmaktadır. Bu amaçla projede ülkemizde bitki silajı yapımında kullanıldığı bilinen ancak balık silajı üretiminde üzerinde çalışılmayan laktik asit bakterilerinden fermente silaj yapımı hedeflenmiştir.

Endüstriyel açıdan balık fermantasyonundan yararlanmak için ticari olarak kabul edilebilir proteolitik aktivite inhibitörlerinin ve uygun psikrotrofik laktik asit kültürlerinin seçimi büyük bir önem arz etmektedir. Bu amaçla silaj yapımında kullanılacak laktik asit bakterilerinin doğal olarak bulunan türlerden izole edilmesi, ülkemiz şartlarında silaj oluşumu için en uygun türlerin belirlenmesini sağlayacaktır. Tamamlanan bu proje ile fermente silaj kurulurken ülkemizdeki bazı balıklarda bulunan doğal laktik asit bakterilerinin izole edilmesi, identifikasyonu ve çoğaltılması sağlanmıştır. Böylece silaj üretiminde özellikle ithal starter kültür arayışına girilmesinin önüne geçilmesi amaçlanmıştır.

Hayvansal protein kaynağı olarak değerlendirilebilen balık silajları önemli miktarda doymamış yağ asitleri de içermektedir. Projede, bu değerli kaynağın ekstraksiyonu ile silajın depolanma ömrünün arttırılması yanında kalitesinin belirlenmesiyle insan tüketimi için uygunluğunun belirlenmesi hedeflenmiştir. Proje sonunda toz haldeki fermente balık silajlarının besin madde bileşenleri, amino asit kompozisyonları, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri, organik asit içeriklerinin belirlenmesiyle de yem hammaddesi olarak hayvancılık da kullanılabilme olanakları araştırılmıştır.

TÜBİTAK tarafından desteklenerek yapılan bu projede (TOVAG 213O166) elde edilen veriler gıda ve hayvancılıkla ilgilenen ve bu sektörde yer alan gerek bölge halkı, gerek beslemeciler, gerekse yem fabrikaları ve katkı maddesi üreticileri için önemli bilgiler içermektedir. Bu bilgilerin balıkçılık ve hayvancılık sektöründe çalışan pek çok kişi ve tüketicilere ulaşmasının ıskarta ve atık su ürünlerine ekonomik değer kazandırılması açısından da faydalı olacağı düşünülmektedir.

ŞEKİLLER LİSTESİ	8
RESİM LİSTESİ	9
ÖZET	11
ABSTRACT	12
1. GİRİŞ	13
2. LİTERATÜR ÖZETİ	15
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	21
3.1. Çalışmada kullanılan laktik asit bakteri türlerinin izolasyonu	22
3.2. Bakteriyel üyelerin ön tanımlanması ve çoğaltılması	26
3.3. Moleküler analizler	30
3.3.1. 16S Ribozomal DNA Bölgesinden Primerlerin Tasarlanması	30
3.3.2. Kromozomal DNA İzolasyonu	31
3.3.3. DNA'nın Jel Elektrofrezisi	31
3.3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	32
3.4. Fermentasyon Testi	33
3.5. Fermente ürünlerin hazırlanması	34
3.6. Fermente ürünlerin kurutulması	34
3.7. Mikrobiyolojik analizler	37
3.8. Kimyasal Analizler	38
3.9. Biyokimyasal Kompozisyon Analiz Metotları	39
3.10. Toz silajların antimikrobiyal aktivite analizleri	40
3.11. İn vitro gaz üretim yöntemi	43
3.11.1. İn vitro gaz üretim tekniğinin uygulanması	44
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	46
4.1. Bakteriyel üyelerin ön tanımlanması	46
4.2. Bakterilerin Moleküler Tanımlanması	48
4.3. Fermantasyon testi	54
4.4. Silajların pH değişimleri	55
4.5. Silajların Mikrobiyolojik Değerlendirilmesi	57
4.5.1. Patojen Varlığı	57
4.5.2. Toplam Aerobik Bakteri Sayısı	57
4.5.3. Toplam Anaerobik Bakteri Sayısı	59
4.5.4. Toplam Laktik Asit Bakteri Sayısı	61
4.5.5. Maya ve küf sayımı	63
4.5.6. Toplam koliform sayımı	63
4.6. Silajların Kimyasal Değerlendirilmesi	64
4.6.1. Non-protein nitrojen (NPN)	64
4.6.2. TBA	66
4.6.3. Balık Silajında Biyojen Amin ve TMA Üretimi	67
4.6.4. Balık Silajında Organik Asit Üretimi	74
4.7. Silajların Yağlarının Ayrılması	76
4.7.1. Silajlardan Ekstrakte Edilen Yağların Kaliteleri	77
4.7.1.1. Yağ Asitleri	77
4.7.1.2. Silajlardan Ekstrakte Edilen Yağların Kimyasal Kaliteleri	83
4.8. Yağları Ayrılan Silajların Kurutulması	89
4.8.1. Silaj Tozlarının Besin Madde Bileşenleri ve Amino Asit Kompozisyonları	89
4.8.2. Toplam Antioksidan ve DPPH	95
4.8.3. Silaj Tozlarının Antimikrobiyal Aktivite Değerlendirmesi	97
4.8.4. Balık Silajı Tozlarında Biyojen Amin ve TMA Üretimi	100
4.8.5. Silaj Tozlarında Organik Asit Üretimi	103
4.8.6. Balık silajı tozlarının in-vitro sindirilebilirlik değerlendirilmeleri	105
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	113

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primerler.

31

Tablo 2.	Elde edilen izolatlardan morfolojik ve biyokimyasal özellikleri.	46
Tablo 3.	Balıklardan izole edilen ve API test kiti ile ön tanımlanan laktik asit bakterisi üyeleri.	47
Tablo 4.	PCR ile tanımlanan bakterisi türleri.	48
Tablo 5.	Laktik asit bakterilerinin fermantasyon yetenekleri.	54
Tablo 6.	<i>Equulites klunzingeri</i> ile hazırlanan asit ve bakterisi silajların pH değerleri.	55
Tablo 7.	<i>Caracius gibelio</i> ile hazırlanan asit ve bakterisi silajların pH değerleri.	56
Tablo 8.	İşleme sanayi atıkları ile hazırlanan asit ve bakterisi silajların pH değerleri.	56
Tablo 9.	Depolama periyodu süresince asit ve fermente silajlarda belirlenen non-protein nitrojen (NPN) değerleri.	65
Tablo 10.	Depolama periyodu süresince asit ve fermente silajlarda belirlenen TBA (mg MA/kg) değerleri.	66
Tablo 11.	Depolama süresince <i>E. klunzingeri</i> silajının biyojen amin üretimindeki değişimleri.	71
Tablo 12.	Depolama süresince <i>C. gibelio</i> silajının biyojen amin üretimindeki değişimleri.	72
Tablo 13.	Depolama süresince işleme atığı silajının biyojen amin üretimindeki değişimleri.	73
Tablo 14.	<i>E. klunzingeri</i> silajında organik asit üretimi (mg/100g).	74
Tablo 15.	<i>C. gibelio</i> silajında organik asit üretimi (mg/100g).	75
Tablo 16.	İşleme atığı silajında organik asit üretimi (mg/100g).	75
Tablo 17.	Eksi balığının ve silaj yapımı sonrası yağ asit içerikleri.	79
Tablo 18.	<i>Caracius</i> türünün ve silaj yapımı sonrası yağ asit içerikleri.	80
Tablo 19.	Atık levreğin silaj öncesi ve sonrası yağ asit içerikleri.	82
Tablo 20.	Tüm silaj gruplarından ekstrakte edilen yağların FFA (%oleik asit), PV (meq/kg) ve TBA (mg MA/g yağ) değerleri.	85
Tablo 21.	Tüm silaj gruplarından ekstrakte edilen yağların anisidin (p-AV) ve totoks değerleri.	88
Tablo 22.	Silaj tozlarının besin madde bileşenleri.	90
Tablo 23.	<i>Equulites klunzingeri</i> 'den yapılan asit ve fermente silaj tozlarının amino asit içerikleri (mg/100g toz silaj).	92
Tablo 24.	<i>Caracius gibelio</i> ' dan yapılan asit ve fermente silaj tozlarının amino asit içerikleri (mg/100g toz silaj).	93
Tablo 25.	Levrek işleme atıklarından yapılan asit ve fermente silaj tozlarının amino asit içerikleri (mg/100g toz silaj).	93
Tablo 26.	Silaj tozlarının toplam antioksidan aktivite (TAA) ve Diphenyl picrylhydrazyl radikal tutma kapasite (DPPH) değerleri.	96
Tablo 27.	<i>E. klunzingeri</i> toz silajında biyojen amin üretimi.	101
Tablo 28.	<i>C. gibelio</i> toz silajında biyojen amin üretimi.	101
Tablo 29.	İşleme atığı toz silajında biyojen amin üretimi.	102
Tablo 30.	Toz <i>E. klunzingeri</i> silajında organik asit üretimi (mg/100g).	103

Tablo 31.	Toz <i>C. gibelio</i> silajında organik asit üretimi (mg/100g).	104
Tablo 32.	Toz işleme atığı silajında organik asit üretimi (mg/100g).	104
Tablo 33:	Balık silajı tozlarının <i>in vitro</i> gaz üretimleri.	107
Tablo 34.	Balık silajı tozlarının <i>in vitro</i> gaz üretim parametreleri.	108
Tablo 35.	Balık silajı tozlarının OMS, ME ve NEL içerikleri ile metotlar arasındaki etkileri.	109

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Projenin Deneysel Planı.	21
Şekil 2.	<i>Equulites klunzingeri</i> ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam aerobik bakteri sayısı.	58
Şekil 3.	<i>Caracius gibelio</i> ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam aerobik bakteri sayısı.	58
Şekil 4.	İşleme atığı ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam aerobik bakteri sayısı	59
Şekil 5.	<i>Equulites klunzingeri</i> ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam anaerobik bakteri sayısı.	60
Şekil 6.	<i>Caracius gibelio</i> ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam anaerobik bakteri sayısı.	60
Şekil 7.	İşleme atığı ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam anaerobik bakteri sayısı.	61
Şekil 8.	<i>Equulites klunzingeri</i> ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam laktik asit bakteri sayısı.	62
Şekil 9.	<i>Caracius gibelio</i> ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam laktik asit bakteri sayısı.	62
Şekil 10.	İşleme atığı ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam laktik asit bakteri sayısı.	63
Şekil 11.	<i>Equulites klunzingeri</i> grubu silaj tozlarının gaz üretim değerleri.	110
Şekil 12:	<i>Caracius gibelio</i> grubu silaj tozlarının gaz üretim değerleri.	110
Şekil 13.	Atık grubu silaj tozlarının gaz üretim değerleri.	111

RESİM LİSTESİ

Resim 1.	Çipura kasının örnekleme.	22
Resim 2.	Levrek iç organının örnekleme.	22
Resim 3.	Yayın kasının örnekleme.	23
Resim 4.	Yayın derisinin örnekleme.	23
Resim 5.	Kefal derisinin örnekleme.	24
Resim 6.	Örneklerin MRS agar içerisine aşılma.	24
Resim 7.	Elde edilen kolonilerin saflaştırılması.	25
Resim 8.	Elde edilen kolonilerin saflaştırılması.	25
Resim 9.	Bakteriyel kültürlerin inkübasyonu.	26
Resim 10.	Mcfarland hücre densitometresi yardımıyla bakteriyel hücre yoğunluğunun ayarlanması.	27
Resim 11.	API 50CHL kitine bakteriyel kültürün aşılma.	27
Resim 12.	Saf izolatların süspansiyon medyum içerisine alınması.	28
Resim 13.	API-20 STREP kitine bakteriyel kültürün aşılma.	28
Resim 14.	API 50CH sonuçlarının değerlendirilmesi.	29
Resim 15.	API-20 STREP sonuçlarının değerlendirilmesi.	29
Resim 16.	API-20 STREP sonuçlarının değerlendirilmesi.	30
Resim 17.	DNA Jel Elektroforezi.	32
Resim 18.	Kıyılmış balık etine bakteri aşılma.	33
Resim 19.	Fermantasyon testi için hazırlanmış tüpler.	33
Resim 20.	Silajların kurutulması aşamasında elde edilen bazı örneklerin fotoğrafları.	36
Resim 21.	10^6 kob/ml hücre yoğunluğundaki test mikroorganizmaları.	41
Resim 22.	Antimikrobiyal aktivite analizi için toz silaj örneklerinin hazırlanması.	41
Resim 23.	Silaj örneklerinin steril disklerle nüfuz ettirilmesi.	42
Resim 24.	Disklerin test organizmalarının bulunduğu petri kabına yerleştirilmesi.	42
Resim 25.	Pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotikler.	43
Resim 26.	Şiringaların inkübasyona hazırlanması.	44
Resim 27.	Numunelerin inkübasyondaki görüntüsü.	45
Resim 28.	Balık etinden izole edilen kolonilerin PCR'ının agaroz jel görüntüsü.	49
Resim 29.	Balık etinden izole edilen kolonilerin PCR'ının agaroz jel görüntüsü.	50

- Resim 30. Balık silajı tozlarının ve antibiyotik disklerin patojen bakteri üzerindeki antimikrobiyal etkisi. 98
- Resim 31. Antibiyotik disklerin (tetracycline) patojen bakteri üzerindeki (*E. coli*) antimikrobiyal etkisinin değerlendirilmesi. 98
- Resim 32. İşleme atığı silaj tozlarına uygulanan test tüplerindeki bakteriyel gelişimler. 99
- Resim 33. İn vitro gaz üretim düzeneğinin görüntüsü. 106

Özet

Balık silajı yüksek kaliteli bir hayvan yemi üretebilmek için ıskarta balık türleri ve su ürünleri işleme sanayi atıklarının değerlendirilmesi açısından umut verici bir potansiyele sahiptir. Bu projede öncelikle, fermantasyon yöntemiyle silaj üretiminde, ülkemizdeki balıklarda doğal olarak bulunan laktik asit bakteri türlerinin belirlenmesi ve bunlardan hangi türlerin uygun olduğunun saptanması amaçlanmıştır. İkinci olarak, silajlardan ekstrakte edilen yağların kompozisyon ve kalitelerinin belirlenmesiyle insan ve hayvan beslemede kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Son olarak farklı laktik asit bakterilerince fermente edilmiş balık silajı tozlarının besin madde bileşenleri, amino asit kompozisyonları, antioksidan, antimikrobiyal aktiviteleri, biyojen amin, organik asit içerikleri ve in-vitro sindirilebilirlikleri belirlenerek yem hammaddesi olarak hayvancılık da kullanılabilme olanakları araştırılmıştır.

Araştırmada, PCR sonuçlarına göre izole edilen bakterilerden fermentasyon yeteneği en yüksek türlerin *Streptococcus* spp., *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Pd. acidilactici* ve *Ent. gallinarum* olduğu tespit edilmiştir. Böylece projede, bir asit (formik asit) ve beş bakteri (*Streptococcus* spp., *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Pd. acidilactici* ve *Ent. gallinarum*) olmak üzere üç farklı ham materyalde (*Equulites klunzingeri*, *Caracius gibelio* ve işleme atıkları) altı grup silaj denemesi gerçekleştirilmiştir. Silajlar üzerinde yapılan mikrobiyolojik ve kimyasal değerlendirmeler sonucunda çalışılan bu bakterilerin başta balık silajı olmak üzere birçok fermente ürüne starter kültür olarak kullanılabilmesi saptanmıştır. Ayrıca bu proje, izole edilen *Ent. gallinarum* türünün fermentasyon amaçlı kullanımı ile ilgili ilk çalışma olmuştur.

Araştırmada, formik asit ve laktik asit bakterileri ile fermente edilerek hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağların yağ asit profillerinin genel olarak elde edildikleri ham materyalinkine benzer olduğu bulunmuştur. Serbest yağ asiti, peroksit, tiyobarbitürük asit, anisidin ve totoks verileri değerlendirildiğinde fermente silajlardan ekstrakte edilen yağların asit silajlardan ekstrakte edilen yağlardan daha iyi kalitede oldukları görülmüştür.

Yağları ayrıldıktan sonra kurutularak toz hale getirilen balık silajlarının besin madde bileşenleri, amino asit kompozisyonları, toplam antioksidan, DPPH inhibisyon oranları, biyojen amin, organik asit içerikleri ve in-vitro sindirilebilirlikleri değerlendirildiğinde; balık silajı tozlarının sindirilebilirliği yüksek değerli bir yem kaynağı olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyodönüşüm, fermente balık silajı, laktik asit bakterileri, besinsel kalite, kimyasal kalite, balık yağları, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite, besleme

Abstract

Fish silage has promising potential to produce high quality animal food from the discard fish and industrial seafood processing waste. In this project, the first aim was to identify the lactic acid bacteria species naturally present in fish in Turkey and determine the suitable ones to produce silage by means of fermentation. The second aim was to evaluate the use of lipid extracted from silages in human and animal diets by determining the composition and the quality of lipids. The last aim was to analyse the proximate and amino acid compositions, antioxidant and antimicrobial activities, biogenic amines and organic acid contents and to determine the in-vitro digestibility of powdered silages fermented by different lactic acid bacteria and the possible use of the powders as livestock feed ingredients was investigated.

In this study, *Streptococcus* spp., *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Pd. acidilactici* and *Ent. gallinarum* isolated according to the PCR results were determined as the highest ability of fermentation. Thus, including an acid (formic acid) and five bacterial (*Streptococcus* spp., *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Pd. acidilactici* and *Ent. gallinarum*) in three different raw materials (*Equulites klunzingeri*, *Caracius gibelio* ve *seafood processing waste*), six groups of silage trials were carried out. As results of the microbiological and chemical assessments studied on silages, it was determined that these working bacteria can be used as starter cultures in many fermented products, especially for fish silage. In addition, using the isolated *Ent. gallinarum* species in relation with the fermentation has become the first study.

In this study, fatty acid profiles extracted from the lipids of the silages prepared by formic acid and fermented with lactic acid bacteria were found to be similar with the raw materials that they were obtained. When the free fatty acids, peroxide, thiobarbituric acid, anisidine and totoxs data were analysed, it was observed that lipids extracted from fermented silages were in better quality than the lipids extracted from acid silages.

After the lipids separated, when the proximate and amino acids compositions, total antioxidants, DPPH inhibition rates, biogenic amines and organic acids compositions and in-vitro digestibility of the powdered fish silages by drying were evaluated, it was determined that the powdered fish silages had high digestibility and a valuable feed source.

Keywords: Biotransformation, fermented fish silage, lactic acid bacteria, nutritional quality, chemical quality, fish oil, antioxidant and antimicrobial activity, feeding

1. GİRİŞ

Hedef türlerin yanında avlanan ıskarta balık türleri ve su ürünleri işleme atıklarının kontrolü sağlanmadığı takdirde önemli sağlık ve çevre problemlerine yol açabilmektedir. Bu atıklar un haline getirilerek değerlendirilebilir ancak bu yöntem ekonomik olarak önemli bir alt yapı gerektirmektedir. Bu durum, büyük miktarlarda oluşan balık atıklarının kontrollü fermentasyon gibi ucuz alternatif biyoteknolojik araçlarla değerlendirilmesi üzerine araştırmaların artmasına yol açmıştır. Bu biyoteknolojik yöntem ile büyük ekipmanlar gerektirmeden asitleştirici mikroorganizma ve karbon kaynağı kullanılarak mikrobiyal kontamisyonsuz son ürüne ulaşılabilir. Laktik asit bakterileri, çeşitli tatlı su ve deniz balıklarında veya balıkların iç organlarında bulunur. Laktik asit bakterileri fermentasyon gibi gıda koruma tekniklerinde en yaygın olarak kullanılan mikroorganizmalardır. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asit, fermente ürünlerde asidik koşullar sağladığı ve gıdalarda bozulma ve zehirlenme etmeni olan bakteriler üzerine öldürücü etkiye yol açtığı için gıda korumada kullanışlı bir bileşik olmaktadır. Endüstriyel açıdan balık fermentasyonundan yararlanmak için ticari olarak kabul edilebilir proteolitik aktivite inhibitörlerinin ve uygun psikrotrofik laktik asit kültürlerinin seçimi büyük bir önem arz etmektedir. Bu amaçla silaj yapımında kullanılacak laktik asit bakterilerinin doğal olarak bulunan türlerden izole edilmesi, ülkemiz şartlarında silaj oluşumu için en uygun türlerin belirlenmesini sağlayacaktır. Ülkemizde su ürünlerinden silaj yapımı yaygın olmamakla beraber genellikle asit yöntem ile

kurulmakta, laktik asit bakterilerince silaj kurulması ile ilgili bir bilgiye rastlanmamaktadır. Bu proje ile fermente silaj kurulurken özellikle ülkemizdeki bazı balıklarda bulunan doğal laktik asit bakterilerinin izole edilmesi, identifikasyonu ve çoğaltılması planlanmıştır. Böylece silaj üretiminde özellikle ithal starter kültür arayışına girilmesinin önüne geçilmesi amaçlanmıştır.

Su ürünleri dengeli bir esansiyel amino asit içeriğine ve yüksek besin değerine sahiptir. Bu kaynaklardan elde edilecek silajlar çiftlik hayvanları üretimi için de önemli bir protein katkısı olabilecektir. Türkiye’de hayvansal üretim, bitkisel üretimden sonra gelmekte ve tarımsal üretim değerinin yaklaşık %30’unu oluşturmaktadır. Hayvancılık konusunda istikrarlı bir ilerleme gözlenememiştir. Zaman zaman hayvancılığa teşviklerin artması zaman zaman da teşviklerin azalması bu olumsuzluğun nedeni olmuştur. Ancak son yıllarda yapılan teşviklerin artması yatırımlarında artmasına ve azalmakta olan hayvan sayısının artmasına neden olmaktadır. Özellikle süt verimi yüksek olması istenen hayvanlar için methionin ve lizin amino asitlerince zengin protein kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır (Santos, 1998).

Çayır mera alanlarının her geçen gün azalması ve bu alanların tarım arazisi olarak kullanılmaları sonucu hayvancılık olumsuz yönde etkilenmektedir. Her geçen yıl kaba yem alanlarının azalması hayvan başına düşen birim alanların azalmasına neden olmaktadır. Bu durum bazı dönemlerde kaba yem kaynaklarının bulunmaması, ekonomik olmaması ve fiyatlardaki yüksek dalgalanmaların oluşmasını kaçınılmaz kılmaktadır. Özellikle ruminant hayvanlarda sindirim sisteminin kontrolü açısından vazgeçilmez yem hammaddesi olarak kullanılması gerekmektedir. Bu gibi nedenler hayvan beslemede alternatif kaba yem arayışlarını arttırmaktadır. Bu amaçla balık yan ürünlerinin hayvan beslemede kullanılması artan kaba yem ihtiyacımızın karşılamasında bir alternatif olarak görülmektedir. Hayvanların besin gereksinimleri yaş, dönem, verim düzeyi, canlı ağırlık, çevre vb. özelliklere göre değişiklik göstermektedir. Özellikle hayvanın verim düzeyinin artması, besin madde gereksinimlerini de arttırmaktadır. Ancak rasyonun besin madde düzeyinin artması maliyetin de artması ile doğru orantılı olmaktadır. Yan ürün olarak elde edilecek olan balık silajlarının zengin protein kaynağına sahip olmasından dolayı yüksek verim kapasitesine sahip hayvanların besin madde ihtiyaçlarının karşılanmasında büyük bir potansiyel oluşturabilecektir. Balık proteinleri özellikle lizin ve methiyonin gibi esansiyel amino asitlerce zengin olmaları nedeniyle yüksek biyolojik değere sahiptirler (O’Donnell ve Dornblaser, 2002; İbrahim, 2009) ve bitkisel yem kaynakları ile kullanıldığında yemin protein kalitesi üzerine olumlu etkileri olacağı açıktır.

Bu projede amaç öncelikle, ekonomik değeri az veya hiç olmayan ülkemizdeki su ürünleri kaynaklarından fermantasyon yöntemiyle silaj üretiminde, hangi bakteri türlerinin uygun olduğunun belirlenmesidir. Daha sonra elde edilen silajların depolanma ve farklı

yemlere ilavesinin kolaylaştırılabilmesi için yağlarının ekstrakte edilmesi ve sprey kurutma ile kurutularak su içeriğinin uzaklaştırılması planlanmıştır. Bu aşamada elde edilen yağların kompozisyon ve kalitelerinin belirlenmesiyle insan ve hayvan beslenmede kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Son olarak toz haline gelmiş farklı laktik asit bakterilerince fermente edilmiş balık silajlarının besin madde bileşenleri, amino asit kompozisyonları, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri, biyojen amin ve organik asit içerikleri belirlenmiş ve yem hammaddesi olarak hayvancılık da kullanılabilme olanakları araştırılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Laktik asit bakterileri gıdaların fermentatif korunmasında rol oynamaktadır. Fermentasyon için laktik asit bakterilerinin tercih edilmesinin ana nedenlerinden birisi ürün lezzetini artırmak ve protein ve vitamin varlığını artırarak ürün kalitesini geliştirmektir. Bu bakteriler besinsel faydalarının yanında fermentatif özelliklerinden dolayı endüstriyel olarak önemli mikroorganizmalardır. Laktik asit bakterileri bir çok fermente üründe dominant mikroorganizma olmaktadır (Ostergaard ve ark., 1998). Bu mikroorganizmalar organik asit, diasetil, hidrojen peroksit ve bakteriyosin gibi çeşitli bileşikler üretmektedir. Bu bileşikler gıdanın tadı ve tekstüründe istenilen etkisinin yanı sıra, gıdada mevcut diğer istenmeyen mikroorganizmaların inhibisyonunda önemli etkilere sahiptirler. Kıyılmış balık veya balık atıklarının tahıl ürünleri ile birlikte laktik asit bakterilerinin aşılmasından sonra silaj fermentasyonu pH'ı 4.5'un altına düşürmekte ve sonuç olarak düşük pH'dan dolayı balıkta bozulma etmeni ve patojen bakterilerin gelişimi elemine edilmektedir. Depolama süresince azot bileşiklerinin yıkımı gerçekleşmekte ve uçucu bazik azot bileşikleri, aminoasit ve peptitlerde artışlar gözlenmektedir. Bu maddeler pH'da artışa ve/veya bakteriyi daha fazla asit üretmeye zorlamaktadır. Bu bazik maddelerin üretim oranı başlıca sıcaklığa bağlı olup, mikrobiyal aktiviteden kaynaklanmayabilmektedir. Proteolitik aktivite başlıca doku proteazından (katepsin) ve kısmen mide-bağırsak proteazından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle endüstriyel açıdan balık fermentasyonundan yararlanmak için ticari olarak kabul

edilebilir proteolitik aktivite inhibitörlerinin ve uygun psikrotrofik laktik asit kültürlerinin seçimi büyük bir önem arz etmektedir (Lindgren ve Pleje, 1983).

Laktik asit bakterileri insan ve hayvanların içorganlarının yanı sıra doğada ve birçok gıda ürünlerinde yaygın olarak bulunur. Ayrıca, bu mikroorganizmalar çeşitli tatlı su ve deniz balıklarında veya balıkların iç organlarında bulunur (Lyhs, 2002; Ringo ve Gatesoupe, 1998). Çeşitli çalışmalarda *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* ve *Carnobacterium* gibi laktik asit bakteri üyelerinin sağlıklı balığın mide-bağırsak bölgesinin normal florasını oluşturduğu bulunmuştur (Sahnouni ve ark., 2012).

Balık silajı tüm balık veya parçalarının asit, enzim veya laktik asit üreten bakterilerin ilavesi ve balığın sindirim sisteminde bulunan enzimlerin yardımları sonucu oluşan sıvı kıvamlı bir üründür. Silaj oluşumu sırasında enzimler proteinleri hidrolize eder ve nitrojen daha fazla çözünebilir hale gelir. Proteinler serbest amino asitlere hidrolize olduklarından, silaj yapımı ile protein biyosentezi için amino asit kaynakları daha kullanışlı hale gelmiş olurlar. Kusursuz olmak isteyen işletmelerin, balık işleme atıklarını yeni ürünlerin üretiminde kullanmaları gerekir. Bu durum çevreyi korumasının yanı sıra kendi gelirlerinin de artmasını sağlayacaktır. Bununla beraber, en büyük yarar besinseldir. Çünkü balık atığı su ürünleri işleme sanayinin ham madde hacminin neredeyse yarısını temsil eden düşük-maliyetli bir besin kaynağıdır. Sanayiden kaynaklanan balık atığı ciddi çevre sorunlarına neden olur çünkü atık işleme fabrikaları için bu atıkların taşınması her zaman sürdürülebilir bir aktivite değildir. Su ürünleri işleme tesislerinin yanı sıra ülkemizde iç sularda ve denizel alanlarda faaliyet gösteren yetiştiricilik tesislerinde de bu atıkların önemli miktarlarda olduğu ve atıkların değerlendirilme potansiyellerinin olduğu görülmektedir. Avcılık sektöründe ise hedef dışı avlanan ıskarta türlerin ekonomiye kazandırılması balıkçılık ile geçinenler için önemli bir gelir kaynağı olma potansiyelindedir.

Balık silajı yapımında kullanılan geleneksel yöntem balık kütlesinin öğütülmesi ve asitle karıştırılmasıdır. Balığın atık parçalarında mevcut olan proteolitik enzimler proteinleri parçalayarak hidrolize etmektedir. Balık silajı yapımında kullanılan diğer yöntem ise karbonhidrat kaynağı ve laktik asit bakterisi katkısıyla laktik asit üretiminin sağlanmasıdır. Bu biyolojik metot diğer bitkisel yem silajları üretimine benzerdir. Asit silajlardan farklı olarak laktik asit bakterileri proteinlerin hidrolizi için proteazlar üretirler (Jini ve ark., 2011) ve bazı laktobacilli türleri koruyucu etkiyi arttıran antimikrobiyal bileşikler üretebilirler (Murthy ve ark., 2014). Ayrıca asit silajlara göre yağ oksidasyonuna karşı koruduğu düşünülmektedir (Raa ve Gilberg, 1982).

Balık silajlarının daha uzun ömürlü olabilmesi için yağlarının ekstrakte edilmesi önerilmektedir (Raa ve Gilberg, 1982, Kompang, 1981). Arruda (2004) Nil tilapyasından

(*Oreochromis niloticus*) hazırlanan asit silajlardan yağ ekstraksiyonu için en iyi yöntemin santrifüj yöntemi olduğunu, hem yağın fiziko-kimyasal özelliklerini koruduğunu hem de verimin yüksek olduğunu belirtmiştir.

Evcil hayvan beslenmesinde kullanılan yem rasyonlarının üretiminde balık unu çok kullanılan hayvansal bir protein kaynağıdır. Dünya pazarı balık ununa alternatif etkili bir kaynak arayışı içerisinde, bu kapsamda balık silajı balık ununa karşı önemli bir alternatiftir. Balık unu ile karşılaştırıldığında silaj üretiminin avantajları aşağıdaki şekilde özetlenebilmektedir (Arruda ve ark., 2007).

- İşlem hemen hemen ölçekten bağımsızdır,
- Teknolojisi basittir,
- Az yatırım gerektirir, hatta büyük ölçekte üretim için bile
- Atık ve koku problemlerini azaltır,
- *Salmonella* gibi patojenler bakımından neredeyse sterildir
- Özellikle sıcak iklimli bölgelerde silaj işlemi hızlıca gerçekleşir ve ürün hazır hale gelir.

Bununla beraber, silaj üretiminin dezavantajı ise akıcı formundan dolayı depolama ve taşıma zorluğunun bulunmasıdır (Beerli ve ark., 2004).

Balık silajlarının protein içeriklerinin ham materyalinkine yakın olması ve düşük maliyetle elde edilmesi nedeniyle aquakültürde kullanımı yüksek bir potansiyele sahiptir (Vidotti ve ark., 2003; Goddard ve Perret, 2005). Bazı araştırmacılar silaj kullanımının daha iyi bir performans vermese bile düşüş yaratmadığını ve maliyeti azalttığını belirtmişlerdir (Heras ve ark., 1994; Espe ve ark., 1999).

Lee ve ark. (2004) orkinos iç organlarından hazırlanan fermente silajların kullanımıyla hem çevre sorunlarının azaltılacağı hem de balık unu veya soya unu ile kısmi olarak ikame edilebileceğini belirtmişlerdir. Liang ve ark (2006) ise Japon deniz levreği (*Lateolabrax japonicus*) yemine %15 oranında balık proteini hidrolizatı ilavesinin kontrol yeme göre daha yüksek gelişme oranı sağladığını bildirmişlerdir. El-Hili (1989) %3 formik asit ve sülfürik asit karışımıyla (%1,5 formik + 1,5 sülfürik asit) hazırlanmış balık silajlarının çipuraların beslenmesinde iyi bir gelişme performansı sağladığını belirtmiştir. %4 formik asitle tilapya atıklarından (kafa, bağırsak, pul, yüzgeç, kemik ve deri) hazırlanmış ve 80 °C sıcaklıkta kurutulmuş asit silajların pirinç kepeği ile karıştırılarak yine hibrit tilapya yavrularının (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus* × *O. aureus*) beslenmesinde balık unununun % 50 'si

oranında ikame edilebileceği saptanmıştır (Madage ve ark., 2015). Yapılan bu çalışmalar su ürünleri yemlerinde bu tür kaynakların kullanımının olumlu katkılar sağladığı yönündedir.

Hammoumi ve ark., (1998), *Sardina pilchardus*'un atıklarına *Lactobacillus plantarum* inokülasyonu ile hazırlanan silajların kepek ve öğütülmüş arpa ile karıştırılarak kümes hayvanlarının beslenmesinde kullanımı araştırılmıştır. Araştırmacılar kümes hayvanlarının beslenmesinde balık atıklarının nitrojen kaynağı ve probiotik katkı maddesi olarak kullanılabilirliğini ifade etmişlerdir. Balios (2003) tavuk beslemede alternatif protein kaynağı olarak kullanılan % 2.5 ve 5 düzeyindeki balık silajının, önemli miktarda daha yüksek yumurta verimine, daha iyi yumurta kabuğu oluşumu ve yemden yararlanma oranının artmasında etkili olduğunu belirtmiştir.

Reis ve Schinckel (1961) koyunlarda balık unu kullanımının bağırsaklardan absorbe edilen amino asit miktarının artışıyla bağımlı olarak yün miktarında önemli derecede artışa neden olduğunu belirtmişlerdir. Süt verimi yüksek olan hayvanlarda rumendeki protein sentezi hayvanın gereksinmelerini karşılamaktan uzak kalması durumunda rumende yıkıma dirençli protein kaynaklarının kullanılması zorunlu olabilmektedir (Stern ve ark. 1994). Bu amaçla kullanılacak en önemli kaynakların hayvansal kökenli (et-kemik unu, kan unu, tüy unu ve balık unu) kaynaklar olduğu bilinmektedir. Bahsedilen bu proteinlerin ince bağırsaklarda sindirilebilir olmaları ve aminoasit kompozisyonlarının da süt verimi için sınırlayıcı olan özellikle metionin ve lizin bakımından iyi durumda olması gerekmektedir (Santos ve ark. 1998). Su ürünleri ise esansiyel amino asitlerden metihyonin ve lizin açısından zengin besin kaynaklarıdır. Yine yapılan araştırmalarda balık silajlarının dengeli ve esansiyel amino asitlerce zengin yem kaynakları olduğu belirlenmiştir (Vidotti ve ark., 2003; Mach ve Nortvedt, 2009).

Salas ve ark. (2011) insan tüketimi için kullanılmayan ancak hayvan yem kaynağı olarak kullanılan şeytan balığını (*Pterigoplychthys* spp.) domuz, koyun ve sığır yetiştiriciliğinde protein gereksinimini karşılamak amacıyla silaj olarak değerlendirmişlerdir. Böylelikle yem maliyeti azaltılarak protein değeri daha yüksek iyi kalitede ürün elde edilmiştir. Pike ve ark., (1994) balık içeren rasyonlarla beslenen süt sığırlarının süt verimi ve süt protein içeriğini artırdığı, konsantre yem miktarını azalttığı ve üretkenliğini artırdığını belirtmişlerdir. Haard ve ark. (1985) Atlantik morina balığı işlenmesi sonucu elde edilen atıklardan (%96.5), formik asit (%3.5) veya formaldehit (%0.25 veya 0.39) katkısı ile balık silajı hazırlamışlardır. Balık silajı samana absorbe edilmiş (1.5:1) ve kuzuların beslenmesinde elde edilen ürünün ham protein içeriği oldukça iyi düzeyde bulunmuştur.

Ornelas ve ark. (2011) insanlar tarafından tüketilmeyen ekonomik ve ekolojik problemlere yol açan şeytan balığını (*Pterygoplichthys spp.*) protein kaynağı olarak sığır beslemede silaj olarak değerlendirmişlerdir. 18 adet erkek sığır (278.9 ± 51.2 kg) 60 gün bu silaj ile beslenmiştir (%0, %12 ve %18). Canlı ağırlık bakımından muameleler arasında önemli farklılıklar gözlenmemiş olup kuru madde tüketimi %0, %12 ve %18 silaj ile beslenen sığırlarda sırasıyla 8.9, 9.3 ve 7.7 kg/gün olmuştur. Yemden yararlanma oranı ise sırasıyla 9.34, 10.03 ve 9.01 kg DMI/kg canlı ağırlık olmuştur. Çalışma sonucunda et sığırlarının beslenmesinde balık silajının alternatif bir protein kaynağı olduğu gözlenmiştir. 1 kg balık silajı katkısı içeren rasyonlarla kış ayları süresince beslenen süt sığırlarının süt üretimi yaz döneminde balık silajı içermeyen rasyonla beslenen sığırlardan elde edilen değerlerle karşılaştırılabilir düzeyde olmuştur. Benzer olarak balık silajı koyunların rasyonlarında da olumlu sonuçlar vermiştir. Koyunlarda kuru madde bazında 500 g ticari rasyon ile 200 g melas balık silajı blokları ve 300 g arpa rasyonu yer değiştirildiği zaman koyunların büyüme perfonsu %24 daha fazla olmuştur. Balık silajının et aroması ve tadını etkilemediği belirtilmiştir (FAO, 1995).

Tejeda-Arroyo ve ark. (2015) kuzu diyetlerinde %18 oranında kullanılan balık silajının herhangi bir negatif etkiye sebep olmaksızın üretim performansını geliştirebileceğini saptamışlardır. Rahmi ve ark. (2008) iç organ, baş ve deri gibi balık atıklarını %10 melas ile karıştırarak *Lactobacillus plantarum* starter kültürü aşlamışlardır. Daha sonra bu karışım 25°C'de 10 gün fermentasyona bırakılmıştır. Koyunlar % 40 arpa- %25 balık silajı-35% buğday kepeği ya da %40 arpa-%50 balık silajı-10 % buğday kepeği olarak 2 farklı rasyonla 9 hafta beslenmiştir. Kontrol yemini ise % 40 arpa ve %60 buğday kepeği oluşturmuştur. Deneme sonucunda balık silajı içeren yem ile beslenen koyunların kontrole kıyasla canlı ağırlığında net bir artış gözlenmiş olup, et özellikleri ve karkas biçiminde olumlu sonuçlar gözlenmiştir.

Balık silajlarının bitki tarımında kullanılabileceği ve bunların ticari gübrelerle benzer verimlilikte oldukları bildirilmektedir (Wyatt ve McGourty, 1990). Bu amaçla yapılan silaj üretimi, çevresel problemleri önleyecek şekilde, çok fazla deneyimli personel gerektirmeden düşük maliyetle gerçekleştirilebilecek uygun bir yöntemdir. Balık silajı toprakta bulunan mikroorganizmalar ve bitkilerin gelişimi için önemli besin bileşenleri içermektedir. Özellikle tropik bölgelerde, balıkçılığın önemli bir geçim kaynağı olduğu yerlerde balık atıklarının silaj yapımından sonra sulandırılarak gübre amaçlı kullanıldığı bilinmektedir.

Karim ve ark. (2015) beş farklı konsantrasyonda balık silajı gübresini (% 1, 2.5, 5, 7.5 ve 10) ticari bir gübre (N-P-K, 15:15:15) ile kıyaslamışlardır. Araştırmacılar sıvı balık silajı

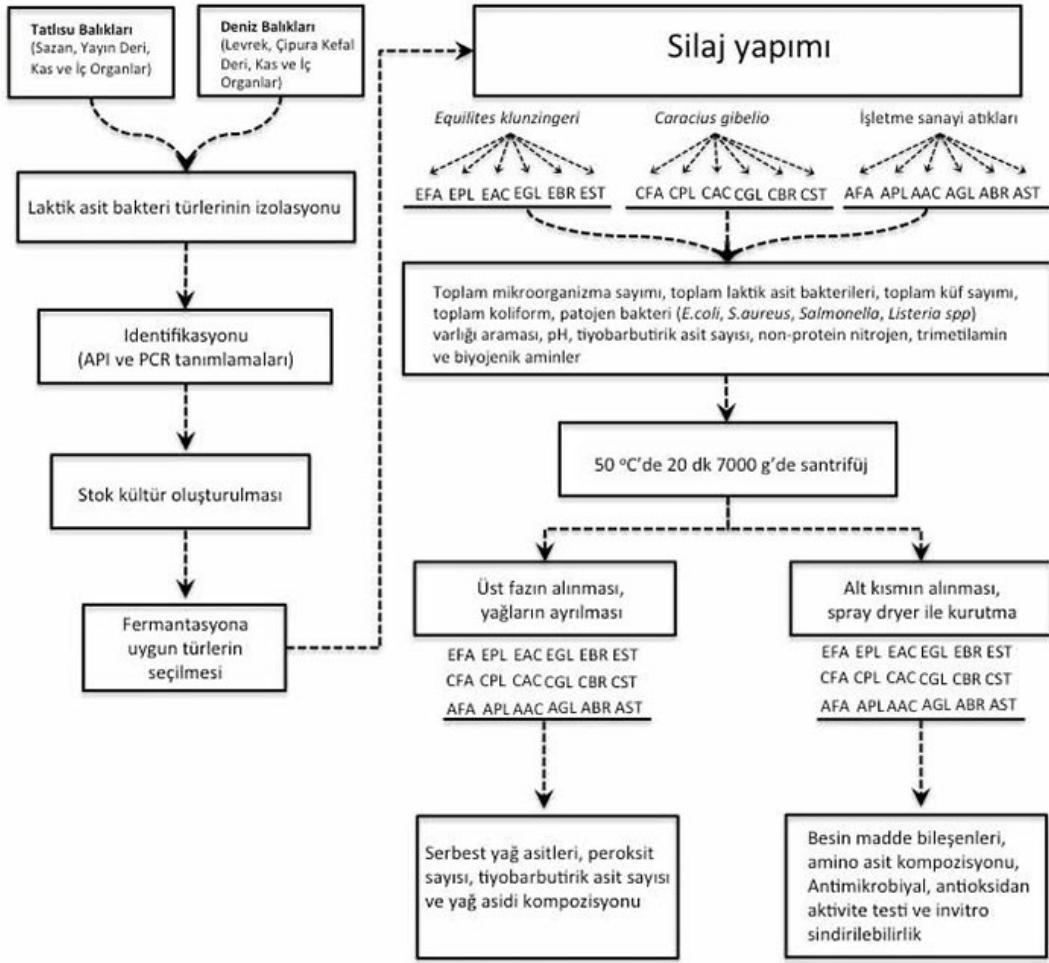
gübresinin % 5, 7.5 ve 10 oranlarının bitki gelişimi, verim, pigment konsantrasyonu ve hasat sonrası kalitesi üzerine ticari gübre ile aynı etkiye sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Blatt (1991) kurutulmuş ve sıvı balık silajının organik içeriğinin bitkiler için uygun olduğunu, Gagnon ve Berrouard (1994) ise domates yetiştiriciliği için balık ve su ürünleri atıklarının ticari gübrelerle benzer etkilere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde İtalyan çimi ve kızıl sedir için balık silajının etkili bir verim arttırıcı olduğu rapor edilmiştir (McDonald ve ark., 1994). FAO (1995) balık silajının sulandırılması ile değerli bir bitki gübresi elde edilebileceğini belirtmektedir.

Balık silajı yüksek kaliteli bir hayvan yemi veya gübre üretebilmek adına balık atığının değerlendirilmesi açısından umut verici bir potansiyele sahiptir. Ancak yapılan literatür taramalarında balık silajının fermentasyon yoluyla elde edilmesinde doğal florada bulunan laktik asit bakteri türlerinin kullanımı üzerine bir bilgiye ulaşılamamıştır. Su ürünleri atıklarının diğer hayvanlarda kullanımı ile ilgili öngörülen en büyük sorun yemin depolanabilirliği ve kokusu olmuştur. Ancak yapılan bu projedeki yenilikçi yaklaşım ile elde edilen silajlarda yağ içeriğinin uzaklaştırılması ve kalan kısmın spray dryer ile kurutma yapılması ile bu problemin bertaraf edildiği düşünülmektedir.

Bu proje ile balığın doğal florasından izole edilen laktik asit bakteri türlerinin farklı su ürünleri kaynaklı ham maddelere uygulanması sonucu oluşan silajların besin içerikleri, kaliteleri, antimikrobiyal aktiviteleri, organik asit içerikleri ve bu silajlardan ayrılan yağların yağ asidi kompozisyonları ve lipid stabiliteleri belirlenmiştir. Elde edilen verilerin yem sanayi, gıda endüstrisi, besin kompozisyonu ve besleme üzerine yapılan akademik ve klinik çalışmalar için temel oluşturacağı düşünülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Projede silaj ham materyali olarak, işleme sanayi atıklarını temsilen levrek atıkları (baş, kılçık, iç organlar, deri vb), Akdeniz'de yaygın olarak bulunan ve iskarta olarak tanımlanan *Equulites klunzingeri* (eksi balığı) ve yine ekonomik değeri az ve istilacı bir tatlısu türü olan *Caracius gibelio* temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan balıkların ortalama ağırlık ve boyları *Equulites klunzingeri* için sırasıyla 5.89 ± 2.56 g, 7.55 ± 1.75 cm, *Caracius gibelio* için ise sırasıyla 209.42 ± 85.02 g ve 22.33 ± 2.52 cm olarak belirlenmiştir. Projenin deneysel planı aşağıda görülmektedir.



EFA: *Equilites kulunzingeri* Formik Asit; EPL: *Equilites kulunzingeri* *Lb. plantarum*; EAC: *Equilites kulunzingeri* *Pd. acidilactici*; EGL: *Equilites kulunzingeri* *Ent. gallinarum*; EBR: *Equilites kulunzingeri* *Lb. brevis* EST: *Equilites kulunzingeri* *Streptococcus* spp

CFA: *Caracius* Formik Asit; CPL: *Caracius* *Lb. plantarum*; CAC: *Caracius* *Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius* *Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius* *Lb. brevis* CST: *Caracius* *Streptococcus* spp

AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent. gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus* spp

Şekil 1. Projenin Deneysel Planı.

3.1. Çalışmada kullanılan laktik asit bakteri türlerinin izolasyonu

Laktik asit bakteri üyelerinin izolasyonu için mevcut proje önerisinde 3 farklı tatlı su balığı türü (sazan, alabalık, yayın) ve 3 farklı deniz balığı türünün (sardalya, çipura, hamsi) kullanılacağı bildirilmiştir. Araştırmada bu faaliyetin gerçekleştirildiği dönemde deniz balığı olarak balıkçılardan çipura, levrek ve kefal, tatlısu balığı olarak da sazan ve yayın tedarik edilebilmiştir.

Balıklar laboratuara ulaştırılır ulaştırılmaz steril koşullarda örneklemeler yapılmıştır. Balıkların kas, deri ve iç organlarından örneklemeler yapılmıştır. Örneklemeye için 3 adet yayın

balığı ve diğer balık türlerinden (çipura, levrek, kefal ve sazan) 10'ar adet balık kullanılmıştır. Her bir balığın kasından ve iç organlarından aseptik olarak 10 gr örnek alınarak 90 ml steril salin solüsyonunda stomakır içerisinde homojenize edilmiştir (Resim 1, 2 ve 3).



Resim 1. Çipura kasının örnekleme işlemi.



Resim 2. Levrek iç organının örnekleme işlemi.



Resim 3. Yayın kasının örneklenmesi.

Deri örnekleme için ise steril swaplar kullanılarak steril salin solüsyon içerisinde örnekleme yapılmıştır (Resim 4 ve 5).



Resim 4. Yayın derisinin örneklenmesi.



Resim 5. Kefal derisinin örneklenmesi.

Sonrasında elde edilen örneklerden 1 ml alınarak MRS agar içersine aşılama yapılmıştır (Resim 6). Petri kutuları 37 °C' de 48-72 saat inkübe edilmiştir.



Resim 6. Örneklerin MRS agar içersine aşılması.

Elde edilen koloniler rast gele seçilerek saf kültür elde edilene kadar MRS agar üzerine aşılama işlemleri gerçekleştirilmiştir (Resim 7 ve 8).



Resim 7. Elde edilen kolonilerin saflaştırılması.



Resim 8. Elde edilen kolonilerin saflaştırılması.

Saflaştırılmış laktik asit bakteri üyeleri MRS broth içerisine alınarak 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir (Resim 9).



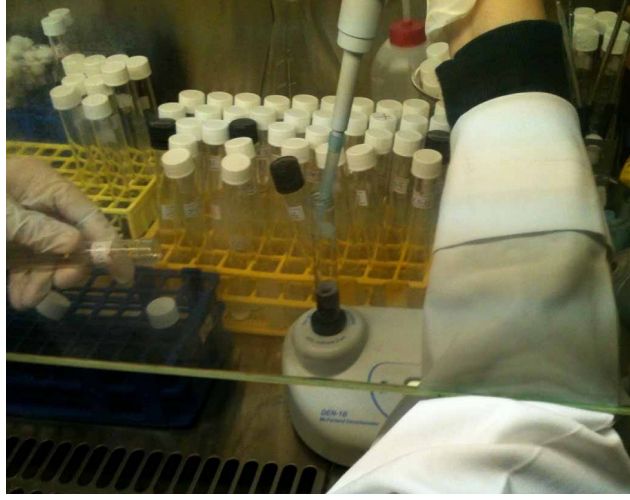
Resim 9. Bakteriyel kültürlerin inkübasyonu.

3.2. Bakteriyel üyelerin ön tanımlanması ve çoğaltılması

Elde edilen kültürlerin ön tanımlanması morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre yapılmıştır (Nair ve Surendran, 2005). İzole edilmiş olan laktik asit bakterilerinin tanımlanmasında izolatların biyokimyasal (katalaz, oksidaz) ve kültürel özelliklerine (koloni morfolojisi) bakılarak ön tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. MRS broth'da gelişen taze kültürler (18-24 saatlik) öncelikle gram testi için gram metoduna göre boyanmıştır (Salle, 1954). Katalaz testi; MRS agar içeren petrilerde büyütülen kolonilerin morfolojik görünüşlerine, rengine ve şekline bakılarak ön değerlendirme yapılmış ve koloni üzerine 20 µL % 3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) damlatılarak gaz kabarcıklarının oluşup oluşmadığına bakılarak test edilmiştir. Gaz oluşturan örnekler katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Hammes ve Vogel, 1995). Sitokrom oksidaz testi için taze koloni üzerine Kovac's cytochrome oxidase reagent eklendikten sonra mavi renk oluşumuna göre sitokrom oksidaz enzim varlığına bakılmıştır. Karbonhidrat fermentasyon testleri ise API 50CHL ve API-20 STREP kitleri kullanılarak değerlendirilmiştir.

API 50CHL kiti *Lactobacillus* ve ilgili cinslerin tespiti için kullanılan 49 farklı karbonhidratın fermentasyonuna olanak sağlayan 50 adet kuyucuktan oluşmaktadır. Tanımlanması yapılacak olan saf izolatlar MRS Agar üzerinde 37°C'de 24 saat geliştirilen koloniler steril öze ile 2 ml'lik süspansiyon medyum (ref. 70700) içerisinde Mcfarland hücre densitometresi yardımıyla 2 Mc Farland yoğunluk elde edilinceye kadar inoküle edilmiştir

(Resim 10). Sonrasında bunlar kuyucuklar içerisinde aşılanarak (Resim 11) $29^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübe edilmiştir. Bu işlemler her bir izolat için ayrı ayrı yapılmıştır.



Resim 10. Mcfarland hücre densitometresi yardımıyla bakteriyel hücre yoğunluğunun ayarlanması.



Resim 11. API 50CHL kitine bakteriyel kültürün aşılması.

API-20 STREP streptokok türlerini belirlemek amacıyla, şeker fermentasyonu veya enzimatik aktiviteyi tespit eden dehidre substrat içeren 20 kuyucuktan oluşmaktadır. 37

°C'de MRS agarda gelişen saf izolatlar 2 ml süspansiyon medyum içerisinde Medium (ref. 70700) 4 Mc Farland yoğunluk elde edilinceye kadar inoküle edilmiştir (Resim 12).



Resim 12. Saf izolatların süspansiyon medyum içerisinde alınması.

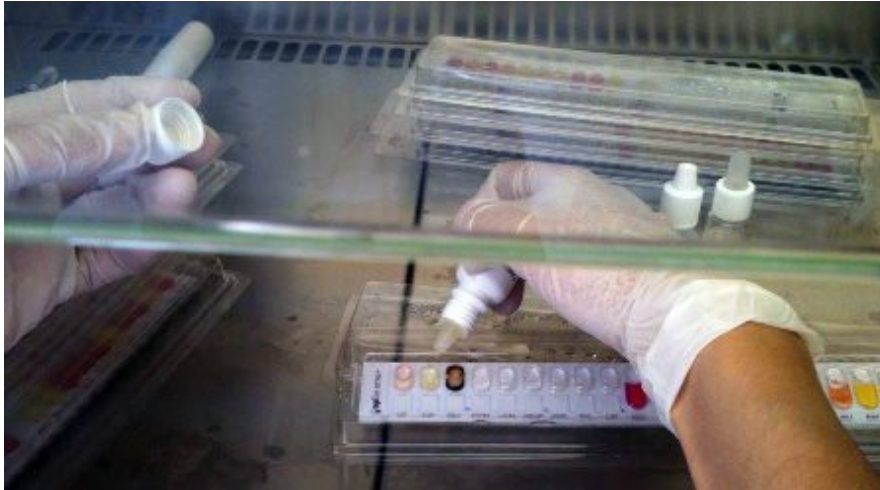


Resim 13. API-20 STREP kitine bakteriyel kültürün aşılması.

Sonrasında her bir örnek kuyucuk içerisinde alınarak (Resim 13) 37 °C'de 24 saat inkübasyona alınmıştır.



Resim 14. API 50CH sonuçlarının değerlendirilmesi.



Resim 15. API-20 STREP sonuçlarının değerlendirilmesi.



Resim 16. API-20 STREP sonuçlarının değerlendirilmesi.

İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki renk değişimi pozitif ve negatif şeklinde sonuç kağıdına işaretlenmiş (Resim 14, 15 ve 16) ve WEB tabanında (API Lab Plus Program, Biomerieux) ön tanımlama yapılmıştır

3.3. Moleküler analizler

API test kiti ile belirlenen türlerin doğrulanması Kahraman Maraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Laboratuvarında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile gerçekleştirilmiştir. İzole edilen DNA'ların saflığı jelde ve spektrofotometrede değerlendirilmiştir.

3.3.1. 16S Ribozomal DNA Bölgesinden Primerlerin Tasarlanması

Farklı Bakterilerin 16S Ribozomal RNA Gen Bölgeleri ClustalW (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw/>) erişimi kullanılarak karşılaştırılmış, ve bütün türlerde ortak olan bölgeden kullanılan bütün türler için 2 geri (reverse) primeri ve 2 ileri (Forward) primerleri tasarlanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primerler.

Primerin adı	Reverse primer
AKY519R	GWATTACCGCGGGCKGCTG
AKY1064R	AYCTCACGRCACGAGCTGAC
Primerin adı	Forward primer
AKY356F	ACWCCTAGGGWGGCWGC
AKY27F	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG

3.3.2. Kromozomal DNA İzolasyonu

Kromozomal DNA, PCR ve nükleotid dizileme çalışmalarında kullanılmak için biyokimyasal olarak tanımlanan izolatlardan kromozomal DNA izolasyonu: Kit kullanılarak 5mL'lik MRS sıvı besi ortamında 37°C'de bir gece büyütülmüş izolatlardan yapılmıştır.

3.3.3. DNA'nın Jel Elektroforezi

İzole edilen kromozomal DNA, plazmit DNA ve PCR ürünleri %0.6 ile %2 arasında değişen konsantrasyonda Agaroz jelde koşturulmuştur. Agaroz jel sonrasında UV ışığında görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır (Resim 17).



Resim 17. DNA Jel Elektroforezi.

3.3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR işlemi Fermentas DNA polimeraz enzimi kullanılarak toplam 40 μL hacimde gerçekleştirilmiştir. 1 μL (20 pikomol) ileri primer, 1 μL (20 pikomol) geri primer, 1 μL dNTP (1 mM), 4 μL buffer $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (10X), 1,6 μL MgCl_2 , 1 μL DNA polimeraz (5 u/ μL), 1 μL kalıp DNA (~400 ng/mL), 29,4 μL dH_2O ile toplam hacim (40 μL) tamamlanarak hazırlanmıştır. PCR işlemi, 94 °C DNA'nın denatürasyonu, değişken yapışma, 72°C de uzama sıcaklığı olarak ayarlanmıştır ve PCR 30 döngü olarak yapılmıştır. Koloni PCR uygulamalarında 1. PCR döngüsünden önce 95°C'de 5 dakikalık ön denatürasyon aşaması eklenmiştir. Bunu takiben ise DNA dizileme ABI3130xl Gen Sekans Cihazı ile yapılmıştır.

3.4. Fermentasyon Testi

Projede silaj hazırlamak için seçilen türler karbon kaynağını kullanarak pH'ı düşürme yeteneklerine (<4.5) göre belirlenmiştir. Bu amaçla elde edilen laktik asit bakteri izolatları bireysel olarak 10 g kıyılmış balık ve 10 ml glukoz içeren tüpler içerisine, MRS broth' da 37 °C' de 24 saat geliştirilen hücre yoğunluğu McFarland Birimi Hücre Densitometresi ile 10^8 - 10^9 cfu/g olarak ayarlanan 1ml laktik asit bakteri üyeleri aşılanmıştır (Resim 18 ve 19). Tüpler daha sonra 37 °C'de 96 saat inkübe edilmiştir (Gongora ve ark., 2012). Sonrasında pH metre yardımıyla her 24 saatte bir kültür ortamının pH'sı ölçülerek, fermentasyon için uygun olduğu görülen beş tür seçilmiştir.



Resim 18. Kıyılmış balık etine bakteri aşılması.



Resim 19. Fermentasyon testi için hazırlanmış tüpler.

3.5. Fermente ürünlerin hazırlanması

Ham materyaller kıyım makinesinde kıyılarak homojen hale getirilmiştir. Daha sonra bu homojenatlara %15 melas ve %5 LAB inokülasyonu yapılmıştır ve fermentasyon 28 °C'de sağlanmıştır (Shirai ve ark., 2001). Hazırlanan silajlar plastik kovalarda ağızları hava almayacak şekilde muhafaza edilmiş, günlük olarak pH değerleri takip edilerek karıştırılmışlardır. Deneme grupları her bir muamele için en az üç paralel olacak şekilde kurulmuştur.

Araştırmada hazırlanan asit ve fermente silajların olgunlaşma öncesi ve sonrasını kapsayan 3 hafta boyunca haftalık olarak toplam aerob ve anaerob mikroorganizma sayımı, toplam laktik asit bakterileri, toplam küf, toplam koliform, patojen bakterilerin (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria* spp) aranması, pH, TBA, non-protein nitrojen, trimetil amin ve biyogenik amin değerleri belirlenmiştir. Bu analizlerden sonra silajların sıcaklığı su banyosunda 50 °C'ye artırıldıktan sonra 20 dk 7000 g de santrifüj edilerek üstte biriken yağ tabakasının alınması sağlanmıştır (Crexi ve ark., 2009). Ayrılan yağların verimi aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır.

Yağ verimi (%)=(Silajdan elde edilen yağ / ham materyalden elde edilen yağ) x 100

Proje planında belirtildiği gibi bu dönem içerisinde, fermente ve asit silajlardan elde edilen yağların kompozisyonu ve kalitelerinin belirlenebilmesi için yağ asidi kompozisyonu analizi, serbest yağ asidi analizi, peroksit değeri ve tiyobarbitürik asit analizleri yapılmıştır. Araştırmada silajlardan elde edilen yağların kalitelerini belirlemek için yapılan bu analizlerin yanında yağların kalitesini daha kapsamlı değerlendirmeye olanak sağlayan *p*-Anisidin ve totox ölçümleri de ilave edilmiştir.

3.6. Fermente ürünlerin kurutulması

Araştırmada, yağları ekstrakte edilen asit ve fermente silajlar kurutma aşamasına geçilmiştir. Bu aşamadan sonra elde edilen tüm silaj örnekleri Buchi B-290 mini spray dryer (püskürtmeli kurutucu) cihazı kullanılarak kurutulmuştur. Cihazın hava giriş sıcaklığı 160 °C olarak ayarlanmış ve çıkış sıcaklığı 90 °C olarak ölçülmüştür. Besleme oranı 20 ml/dk, olarak ayarlanmıştır. Püskürtmeli kurutucunun laboratuvar tipi (Buchi B 290) olması nedeniyle silajlardan toz elde edilme süresi beklenenden uzun sürmüştür. Ancak proje planında belirtilen bu süre içerisinde tüm gruplar toz hale getirilebilmiştir.

Kurutma gıdaların raf ömrünü arttırmak için kullanılan en eski yöntemlerden birisidir. Günümüzde, diğer kurutma yöntemlerine göre sahip olduğu avantajlardan dolayı püskürtmeli kurutma (spray drying) akışkan ve sıvı gıdaların toz forma geçirilmesinde endüstride yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Yapışma şeker içerikli gıdalarda püskürtmeli kurutmada karşılaşılan en temel problemdir. Bu durumun düşük moleküler ağırlıklı karbohidratlardan ileri geldiği bildirilmektedir (Bhandari ve ark., 1997; Bhandari ve Howes, 1999; Goula ve Adamopoulos, 2008). Bu projede de fermente silajlarda bakterilerin fermentasyonunun sağlanabilmesi için karbohidrat kaynağı olarak melas kullanıldığı için kurutma esnasında püskürtmeli kurutucu cihazının cidarında yapışmalar olduğu ve istenilen formda bir kurutma sağlanamadığı gözlenmiştir. Bu problem nedeniyle çalışmada püskürtmeli kurutucu dışında vakumlu etüv, kurutma dolabı ve gölgede açık havada kurutma gibi yöntemler denenmiş, ancak bu yöntemlerin hepsinde silajların içerisinde bulunan melasın karmelleşmeye neden olduğu ve homojen olmayan bir yapının oluştuğu gözlenmiştir.

Püskürtmeli kurutmada yapışmayı önlemek için yaygın olarak kullanılan yardımcı madde maltodekstrindir (Goula ve Adamopoulos, 2008; Shrestha ve ark., 2007). Projede püskürtmeli kurutucuya yapışmaları önlemek ve istenilen formda bir kurutma sağlamak için literatür bilgileri doğrultusunda kurutma esnasında maltodekstrin (MD) ilavesi yapılmasına karar verilmiştir. Benzer şekillerde, bir çok araştırmacı bu tür karbohidrat içerikli gıdaların kurutulmasında püskürtmeli kurutucuya yapışmaların önlenmesi için 1:1 den 1:3'e (kuru maddede) değişen oranlarda maltodekstrin kullanımını önermişlerdir (Akkaya ve ark., 2012; Dinç ve ark., 2012; Shrestha ve ark.,2007). Bu çalışmada yapılan ön denemelerde öncelikle 1:1 ve 1:2 kuru madde/maltodekstrin (DE 18-20) oranları çalışılmış ve kullanılan iki oran arasında farklılık gözlenmediği için 1:1 oranına karar verilmiş ve çalışma bu şekliyle yürütülmüştür. Aşağıda, çalışmadan bazı fotoğraflar görülmektedir (Resim 20).



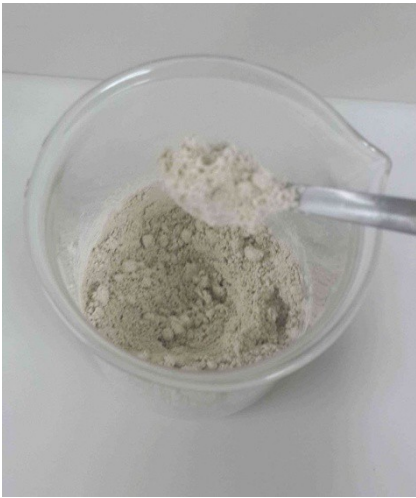
a) Püskürtmeli kurutucuda maltodekstrin kullanılmadan yapılan kurutma işlemi sonrası "asit silaj örneği".



b) Püskürtmeli kurutucuda maltodekstrin kullanılmadan yapılan kurutma işlemi sonrası "fermente silaj örneği".



c) Vakumlu etüvde kurutma denemesi sonucu "fermente silaj örneği".



d) Püskürtmeli kurutucuda maltodekstrin yardımıyla kurtulan "fermente silaj örneği".

Resim 20. Silajların kurutulması aşamasında elde edilen bazı örneklerin fotoğrafları

Toz hale gelen asit ve fermente silajların besin madde bileşenleri, amino asit kompozisyonları, biyojen amin, organik asit içerikleri, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Projede bundan sonra, toz haldeki silaj örneklerinin in vitro gaz üretim yöntemi kullanılarak hayvan beslemede kullanılabilirlikleri araştırılmıştır.

3.7. Mikrobiyolojik analizler

Toplam mezofil aerob mikroorganizma sayımı ICMSF (1982) yöntemine göre yapılmıştır. Balık silajlarından 10'ar gram örnek alınarak bu örnekler 90 ml'lik ringer solüsyonunda 2 dakika stomacher ile homojenize edilmiştir. Bu homojenatlar sonrasında 10⁸'e kadar dilüsyon edilmiştir. Her bir dilüsyon serisinden 0.1 ml alınarak Plate Count Agar içeren petri kutularına üç tekrarlı ekim yapılmıştır. Bu petri kutuları mezofil canlı sayımı için 30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Toplam anaerobik bakteri sayımı için uygun seyreltiklerden Plate Count Agar içeren petri kutularına ekim yapılmıştır. Petri kutuları CO₂ gazını üreten kitlerin bulunduğu anaerobik kavanozlarda 20 °C'de 4 gün inkübe edilmiştir (Speck, 1984). Toplam laktik asit bakteri sayımı için uygun seyreltiklerden 1 ml alınarak dökme yöntemi ile De Man, Rogosa-Sharpe (MRS) Agar içeren petri kutularına aşılama yapılmıştır. Sonrasında petri kutuları anaerobik olarak 30 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir.

Toplam koliform bakteri sayımı için Violet Red Bile Agar (VRBA, Oxoid, CM0107) ile çift katlı dökme plak yöntemi (FDA, 1998) kullanılmıştır. Yukarıdaki işlemlere benzer yolla elde edilen uygun dilüsyon serisinden 1 ml alınarak petri kutusuna aktarılacak ve üzerine 45-50°C'ye kadar soğutulmuş 4-5 ml VRBA dökülmüştür. Besiyeri katılaştıktan sonra tekrar VRBA dökülmüştür. Petri kutuları sonrasında 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

Toplam küf sayımı potato dextrose agar (Merck, Germany) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yukarıdaki işlemlere benzer yolla elde edilen uygun dilüsyon serisinden 1 ml alınarak potato dextrose agar içeren petri kutusuna aşılanmıştır. Petri kutuları sonrasında 25° C'de 3–5 gün inkübe edilmişlerdir.

Balık silajında patojen mikroorganizmalarla kontaminasyonunu belirlemek için silajdaki patojen varlığına (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp.) bakılmıştır.

E. coli analizi için de uygun dilüsyonlardan kromojenik Tryptone Bile X—Glucuronide Medium (TBX (Oxoid, CM945) besiyerine 0.5 veya 1 ml aktararak yüzeye sürme yöntemi ile ekim yapılmıştır. Petrilere 18-24 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır.

Staphylococcus aureus aranması, uygun dilasyonlardan Baird Parker Agar (Merck 1.10675) selektif besi yeri bulunan 14 cm çaplı büyük petri kutusuna doğrudan 1 ml ekim ile yapılmıştır. 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilecek şüpheli kolonilerin (koloni etrafında berrak zon) oluşup oluşmama durumuna göre yorum yapılmıştır (Merck, 1998). Şüpheli koloniler API-staph test kitleri ile doğrulanmıştır.

Salmonella aranması ISO 6579:2002 yöntemine göre yapılmıştır. Bunun için homojenize edilmiş 25 g örnek aseptik koşullarda 225 ml tamponlanmış peptonlu su içerisine alınarak homojenizasyon yapılmıştır. Elde edilen homojenat 37 °C'de 18 saat inkübe edilerek bir ön zenginleştirme yapılmıştır. Bu kültürden seçici zenginleştirme besi yeri olan Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth'un (RVS Broth) 10 ml'sine 0.1ml eklendikten sonra 37 °C'de 24 inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bu kültürden XLD agar (Merck 1.05287) besi yerlerine sürme ekim yapılarak 37 °C'de 24 saat sonunda şüpheli kolonilerin oluşup oluşmama durumlarına göre Salmonella yönünden API 20 E doğrulama testi gerçekleştirilmiştir.

Listeria aranması ISO 11290-1:1996 yöntemine göre yapılmıştır. Bu amaçla 25 g silaj ilk ön zenginleştirme olarak 225 ml'lik half fraser broth içerisine alınarak stomacher ile homojenize hale getirilmiştir. Elde edilen homojenat 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Sonrasında kültürden 0.1 ml alınarak Palcam ve Oxford agar içersine aşılama yapılarak doğrulama işlemine geçilmiştir. Diğer taraftan kültürden 0.1 ml alınarak 10 ml'lik fraser broth içerisinde ikinci zenginleştirme işlemi yapılmış ve kültürler 30 °C veya 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Sonrasında kültürden 0.1 ml alınarak Palcam ve Oxford agar içersine aşılama yapılarak, 37 °C'de 24 saat sonunda şüpheli kolonilerin oluşup oluşmama durumlarına göre Listeria yönünden değerlendirilmiştir. Şüpheli kolonilerin *Listeria* yönünden tanımlanması için API Listeria test kitleri (BioMerieux, La Balme-les-Grottes, France) kullanılmıştır.

3.8. Kimyasal Analizler

Hazırlanan silajların non-protein nitrojen analizi Bhaskar ve Mahendrakar (2007) nın belirttiği şekilde %20 TCA solüsyonuyla ekstrakte edilerek filtre edilen örneklerde Kjeldahl yöntemine göre yapılmıştır. pH ölçümleri dijital bir pH metre (WTW 315i, Germany) ile belirlenmiştir. Serbest yağ asidi analizi (FFA) AOCS (Ca 5a-40, 1994)'e göre, peroksit analizi (PV) ise AOCS (Cd 8-53, 1994)'e göre yapılmıştır. İkincil lipid oksidasyon ürünlerini belirlemek amacıyla tiyobarbitürik asit sayısı (TBA) Tarladgis ve ark. (1960)'na göre belirlenmiştir.

Yağ'da TBA analizi ise AOCS (1998)'e göre belirlenmiştir.

p-Anisidin değeri (AV) IUPAC 2.504 (1987) metoduna göre belirlenmiştir. Metot, yağ ve *p*-Anisidin de aldehit ürünlerini arasındaki reaksiyon sırasında oluşan ürünlerin spektrofotometrik belirlenmesi esasına dayanmaktadır. *p*-anisidin değeri $AV = 25 \times (1.2A_s - A_b) \times (m^{-1})$ formülü ile hesaplanmıştır. A_s *p*-anisidin reaktifi ile reaksiyonundan sonraki absorbans değeri, A_b yağ çözeltisinin absorbans değeri ve m silaj yağının ağırlığıdır. Totox değeri " $Totox = 2 \times PV + AV$ " şeklinde hesaplanarak belirlenmiştir.

Projede hazırlanan örneklerin invitro antioksidan aktiviteleri "toplam antioksidan aktivitesi" ve "DPPH (Diphenyl picrylhydrazyl) radikal tutma kapasitesi" analizleriyle belirlenmiştir (Rai ve ark., 2012). Toplam antioksidan kapasitesinin belirlenebilmesi için alınan örneğe 3 mL reagent solüsyonu (0.6 M sülfirik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat) ilave edilmiştir. 95 °C'de 90 dakika su banyosunda inkübasyondan sonra oda sıcaklığında soğutulularak 695 nm'de spektroda absorbans değerleri belirlenmiştir. DPPH (Diphenyl picrylhydrazyl) radikal tutma kapasitesi yine Rai ve ark. (2012) yöntemine göre 100 µL örnek 2 mL distile su ile tamamlandıktan sonra 2 mL 0.16 M DPPH (methanolde) ilave edilmiş ve karışım vorteks edildikten sonra 30 dk oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Absorbanslar 517 nm'de belirlenmiştir.

3.9. Biyokimyasal Kompozisyon Analiz Metotları

Araştırmada nem ve ham kül sırasıyla AOAC 950.46 (1998) ve AOAC 920.153 (1998) metotlarına göre belirlenmiştir. Ham protein Kjeldahl yöntemine (AOAC 981.10, 1998) göre belirlenirken yağ ekstraksiyonu işlemi Bligh ve Dyer (1959) metoduna göre yapılmıştır. Balık silajı tozlarında karbonhidrat içeriği toplam ham kül, protein ve lipit miktarının kuru maddeden çıkarılmasıyla hesaplanmıştır.

Yağ asitleri metil esterleri küçük bir ekleme ile Ichihara ve ark. (1996) metoduna göre *n*-heptan ve methanol içersinde 2 M KOH kullanılarak transmetilasyon hazırlanmıştır. Yağ asitleri analizi GC Clarous 500 cihazında (Perkin-Elmer, USA), alev iyonizasyon detektörü ve asit silisit tuzu tüpü SGE (30 m · 0.32 mm ID · 0.25 LM bp20 0.25 UM, USA) kullanılarak yapılmıştır. Yağ asitleri standart 37 bileşenden oluşan FAME karışımının gelme zamanına bağlı olarak karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır.

Trimetilamin ve biyojenik aminler hızlı bir HPLC metodu (Ozogul ve ark., 2002) kullanılarak analiz edilmiştir. Beş gram örnek alınıp, %6 lık TCA solüsyonundan 20ml

eklenerek ultratoraks kullanılarak parçalanmıştır. Filtre kağıdından süzöldükten sonra 50ml tamamlanarak türevlendirme işlemine kadar -18°C de saklanmıştır. Türevlendirme işlemi için 2 ml ekstrakte edilmiş örnek üzerine 1ml 2M NaOH, 2 µL benzoyl klorid eklenerek vortexde karıştırılmıştır. Daha sonra örnek üzerine 2ml doymuş NaCl₂ eklenerek benzolasyon durdurulmuştur. 4ml dietileter eklendikten üst faz alınarak azot gazının altında uçurma işlemi gerçekleştirilmiştir. Örnekler 1ml acetonitril içinde çözdürerek HPLC cihazında analiz edilmiştir.

Projede, örneklerin amino asit kompozisyonu asit hidroliz yöntemi ile fakülte bünyesinde bulunan HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) cihazı kullanılarak tespit edilmesi planlanmıştır. Ancak amino asit analizi ile ilgili olarak HPLC kolonunda yaşanan sorundan dolayı, örneklerin amino asit analizleri TÜBİTAK-MAM Endüstriyel Hizmetler Biriminde Shimadzu 20 serisi Ultra Hızlı Sıvı Kromatografi (UFLC) cihazı kullanılarak Dimova, (2003) ve Gheslaghi ve ark., (2008) yöntemine göre yapılmıştır.

Organik asit analizi için 1 g örnek üzerine 5 ml %3'lük metafosforik asit eklenerek, örnek ultraturaksta 1 dk homojenize edilmiştir. Örnekler sonrasında santrifüj tüplerine alınarak 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Üst tabakaları alınarak HPLC'de belirlenmiştir. HPLC analizi için mobil faz %0.05 metafosforik asit ve asetoneitriden oluşmuştur. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) analizi, dört-kanallı mikser (Shimadzu. FCV-10ALVP) ile bir kademeli pompa (Shimadzu LC-10ATVP) bulunan bir Shimadzu LC-10VP (Shimadzu, Kyoto, Japan) aleti kullanılarak yapılmıştır. Organik asit tespiti için Spheredclone ODS 2 C18 kolonu (150x4.60 mm ebadında ve 5 µm çapında) ve DAD detektörü, biyojen amin analizi için ise bir UV/VIS detektör (Spectra-Physics SP 8450, Analytical, UK) kullanılmıştır.

3.10. Toz silahların antimikrobiyal aktivite analizleri

Araştırmada hazırlanan örneklerin invitro antimikrobiyal aktivite düzeyi disk difüzyon metoduna göre (Murray ve ark., 1995) belirlenmiştir. Araştırmada test organizmaları olarak *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi A*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi gıda kaynaklı patojenler kullanılmış olup, bu bakteriler Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Mikrobiyoloji Kalite Kontrol laboratuvarından tedarik edilmiştir. 10⁶ kob/ml hücre yoğunluğundaki test mikroorganizmalar Nutrient agar üzerine aşılantmıştır (Resim 21, 22). 100 µL örnek (50 mg/ml) steril disklere (1 mm çapında) nüfuz ettirildikten sonra biyolojik flow kabin içerisinde kurumaya bırakılmıştır (Resim 23).

Sonrasında diskler bakteri aşılama petri kutuları yüzeyine yerleştirilmiştir (Resim 24).



Resim 21. 10^6 kob/ml hücre yoğunluğundaki test mikroorganizmaları.



Resim 22. Antimikrobiyal aktivite analizi için toz silaj örneklerinin hazırlanması.

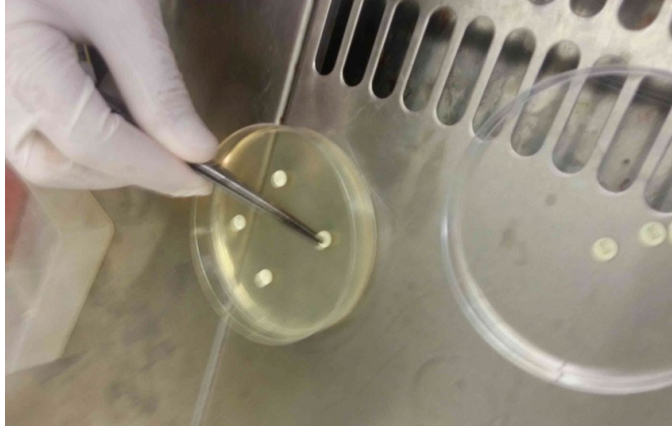


Resim 23. Silaj örneklerinin steril disklere nüfuz ettirilmesi.



Resim 24. Disklerin test organizmalarının bulunduğu petri kabına yerleştirilmesi.

Petri kutuları 37 ± 1 °C'de 18–24 saat inkübe edildikten sonra kumpas yardımıyla bakteriyel inhibisyon çapları ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak, tetracycline ve neomycin gibi antibiyotikler kullanılmıştır (Resim 25).



Resim 25. Pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotikler.

Çalışmada hazırlanan örneklerin disk difüzyon yönteminde aktivite belirlenen suşlar üzerine minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) [Hernandez-Perez ve ark. \(1994\)](#) kullandığı mikrodilüsyon metoduna göre de belirlenmiştir. Test mikroorganizmaları 10^6 kob/ml hücre düzeyinde ayarlanmış olup, besiyeri olarak Mueller-Hinton Broth (Oxoid, CM0405) kullanılmıştır. 50 mg/ml'lik hazırlanan stok solüsyon steril tüpler içerisinde 0.19 mg/ml düzeyine kadar seyreltilmiştir. İçerisinde sadece stok solüsyon ya da saf kültür bulunan tüp kontrol olarak değerlendirilerek, mueller hinton broth içeren diğer tüpler test mikroorganizmalarını ve seyreltik stok solüsyonları içermiştir. Kullanılacak olan tüpler tekrarlı hazırlanmış ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilmişlerdir. Test tüplerindeki bakteriyel gelişimler kontrol tüplere göre kıyaslanmış ve bakteriyel gelişimde en düşük inhibisyon gözlenen tüpler MİK olarak kaydedilmiştir.

3.11. İn vitro gaz üretim yöntemi

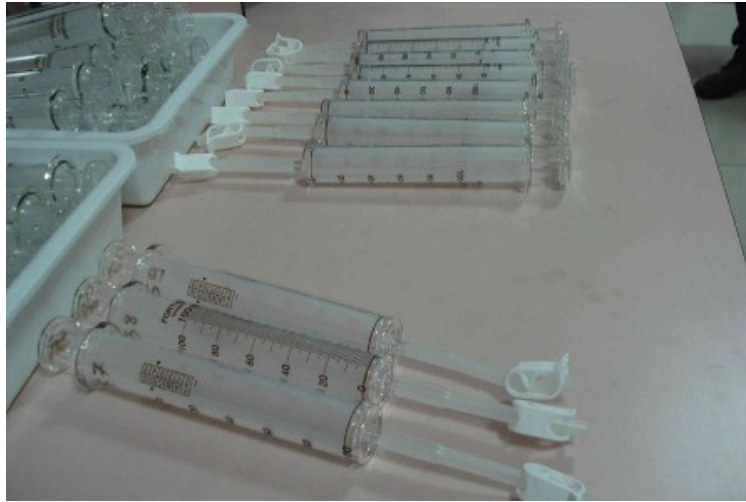
Mevcut çalışmada kullanılacak olan rumen sıvısı Adana bölgesindeki kesimhaneden temin edilmiştir. İn vitro gaz üretim tekniğinin uygulanması 100:1 ml'lik enjektörler kullanılmıştır. Denemede kullanılan yem materyallerinde kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY), ham selüloz (HS) ve ham kül (HK) analizleri A.O.A.C, (1998)'in bildirdiği gibi, asit çözücülerde çözünmeyen lifli maddeler (ADF), asit çözücülerde çözünmeyen lignin (ADL) ve nötr çözücülerde çözünmeyen lifli maddeler (NDF) analizleri hayvan besleme laboratuvarın da yapılp Van Soest (1991)'in bildirdiği gibi; nitrojensiz öz maddeler (NÖM) değerleri ise hesaplama yoluyla belirlenmiştir.

Yemlerin toplam gaz miktarlarının belirlenmesinde *in vitro* gaz üretim tekniği (IVGU) uygulanmıştır ([Blümmel ve Ørskov, 1993](#)). Denemede balık yan ürünleri IVGU tekniği

uygulanmış ve balık silajlarının OMS, ME ve NEL değerleri ve 96 saatlik inkübasyonu sonucunda gaz üretim parametreleri, inkübasyon sonunda pH değerleri belirlenmiştir.

3.11.1. İn vitro gaz üretim tekniğinin uygulanması

Yem örneği 1 mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş, yaklaşık 250 mg havada kuru yem maddesi (200 mg KM) tartılarak, enjektörün dibine yerleştirilmiştir. Rumen sıvısı alınmadan hemen önce, 400 ml saf suya 0.1 ml mikro mineral çözeltisi, 200 ml rumen tampon çözeltisi, 200 ml makro mineral çözeltisi, 1.0 ml resazurin çözeltisi ve 40 ml indirgeme çözeltisi karıştırılarak hazırlanacak vasat CO₂ altında 39°C' deki su banyosunda bekletilmiştir. Rumen sıvısı hayvanlardan, yemlemeden hemen önce alınmış, karbondioksit ile beslenen 2 litrelik 39 °C' de ısıtılmış bir erlen içine iki kat tülbentten süzölmüş ve sıcaklığı muhafaza edilerek bir termos içerisinde laboratuara seri şekilde taşınmıştır. Bir kısım rumen sıvısı iki kısım vasat ile karıştırılarak karışım içine sürekli olarak karbondioksit gazı verilmiştir. Rumen sıvısı vasat karışımından her bir enjektöre 30 ml ilave edilmiştir (Resim 26). İnkübasyonlar sabah başlatılmıştır (Resim 27). Okumalar 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde, sıcaklık değişikliklerini de önlemek için mümkün olduğu kadar hızlı yapılmıştır. Ayrıca 96 saatlik inkübasyon sonrasında enjektörlerde kalan sıvıda pH analizleri yapılmıştır.



Resim 26. Şırıngaların inkübasyona hazırlanması.



Resim 27. Numunelerin inkübasyondaki görüntüsü.

Gaz üretim parametreleri, NEWAY adlı PC paket programı yardımıyla aşağıdaki modele göre hesaplanmıştır ([Ørskov](#) ve McDonald, 1979).

$$y = a+b(1-e^{-ct})$$

Burada; a: hemen çözünebilir fraksiyondan oluşan gaz miktarı (ml), b: zamana bağlı oluşan gaz miktarı (ml), c: gaz üretim hızı, a+b: potansiyel gaz üretimi (ml), t: inkübasyon süresi (saat), y: “t” zamandaki gaz üretimini temsil etmektedir. Organik maddenin sindirilebilirliği (OMS, %), 96. saatteki gaz üretim miktarı (GÜ), ham protein (HP, g/kg KM) ve ham külden (HK, g/kg KM) aşağıdaki formül (Menke ve ark., 1979) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{OMS, \%} = 14.88 + 0.889 \text{ GÜ} + 0.45 \text{ HP} + 0.065 \text{ HK}$$

Yemlerin net enerji laktasyon (NEL) (Menke ve ark. 1979), metabolize edilebilir enerji (ME) içeriklerinin (Close ve Menke, 1986) belirlenmesinde aşağıdaki eşitliklerden yararlanılmıştır. Bu eşitliklerle elde edilen veriler daha sonra kcal/kg KM'ye dönüştürülmüştür.

$$\text{NEL, (MJ/kg KM)} = 0.075 \text{ GÜ} + 0.087 \text{ HP} + 0.161 \text{ HY} + 0.056 \text{ NÖM} - 2.422$$

$$\text{ME, (MJ/kg KM)} = 1.06 + 0.157 \text{ GÜ} + 0.00884 \text{ HP} + 0.022 \text{ HY} - 0.0081$$

K

Burada; GÜ: 96. saatlik inkübasyon sonrası gaz üretimi (ml/200mg KM), HP: g/kg KM, HY: g/kg KM, HK: g/kg KM, NÖM: g/kg KM.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bakteriyel üyelerin ön tanımlanması

Çalışmada izole edilen üyelerin hepsi gram pozitif, oksidaz ve katalaz negatif olarak tespit edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Elde edilen izolatların morfolojik ve biyokimyasal özellikleri.

Bakteri türleri	Gram boyama	Katalaz	Oksidaz
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	+	-	-
<i>Leunostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	+	-	-
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	+	-	-
<i>Aerococcus viridans</i>	+	-	-
<i>Lactobacillus fermentum</i>	+	-	-
<i>Leuconostoc</i> spp.	+	-	-
<i>Lactobacillus curvatus</i> subsp. <i>curvatus</i>	+	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i>	+	-	-
<i>Enterococcus faecium</i>	+	-	-

Çipura, levrek, kefal, sazan ve yayın balığının kası, derisi ve iç organlarından toplam 61 bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir. API testi sonucunda toplamda 56 izolat ön tanımlanmış, 5 izolat tanımlanamamıştır. Çalışmada 6 tür tespit edilmiş olup, *Leunostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (%35.69) ve *Aerococcus viridans* (%32.1) baskın tür olmuştur (Tablo 3). Kefal dışında test edilen bütün balıkların iç organlarından ve kasından 15 *Leunostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* üyesi izole edilmiştir. Bu bakteri ayrıca tüm deniz balığı türlerinin derisinden de izole edilmiştir (4 izolat). Gonzalez ve ark. (2000) başta alabalık olmak üzere çeşitli tatlı su balıklarından 249 laktik asit bakteri üyesi tespit etmişlerdir. 156 üye *Carnobacterium piscicola*, 10 üye *Carnobacterium divergens* ve 1 üye *Carnobacterium mobile* olarak tespit edilmiştir. Çalışmada ayrıca *L. plantarum* (2 izolat), *L. sakei* subsp. *sakei*, *L. sharpae*, *L. mali*, *L. curvatus* subsp. *curvatus* (her bir türden 1 izolat) tespit edilmiştir. Çalışmada ayrıca 8 *Enterococcus* üyesi tespit edilmiştir (Gonzalez ve ark., 2000). Balcazar ve ark. (2006) salmon balıklarından *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactobacillus curvatus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus sakei* ve *Carnobacterium maltaromaticum* olmak üzere toplam 6 farklı laktik asit bakterisi izole etmişlerdir.

Bu araştırmada, bütün balıkların kasından *Aer. viridans* izole edilmiştir. Çipura kası (7 izolat), yayın kası (2 izolat), levrek kası (1 izolat), kefal kası (1 izolat) ve sazan kasındaki (1 izolat) toplam *Aer. viridans* izolat sayısı 12 olmuştur. Yayın ve sazanın iç organından sırasıyla 3 ve 2, çipura ve levrek iç organından birer *Aer. viridans* izolatı tespit edilmiştir. Deri örneklemelerinde ise sadece çipura ve kefal derisinde bu bakteri izole edilmiştir (2 izolat).

Lactobacillus delbrueckii subsp. *delbrueckii* toplam izolatın %10.69'unu oluşturmuştur. Çipura ve yayın balığının iç organ ve kasından 4 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* üyesi bulunmuştur. Kefal derisinden ise 1 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* izolatı tespit edilmiştir.

Tablo 3. Balıklardan izole edilen ve API test kiti ile ön tanımlanan laktik asit bakteri üyeleri.

	Çipura			Levrek			Kefal			Sazan			Yayın			Toplam (%)
	İO* (%)	K (%)	D (%)	İO (%)	K (%)	D (%)	İO (%)	K (%)	D (%)	İO (%)	K (%)	D (%)	İO (%)	Kas (%)	Deri (%)	
<i>Lb. delb.</i>																
subsp. <i>delbrueckii</i>	1.78	1.78	-	-	-	-	-	-	1.78	-	-	-	1.78	3.57	-	10.69
<i>Leu. mes. subsp. cremoris</i>	1.78	3.57	1.78	1.78	3.57	3.57	-	3.57	5.36	5.36	5.36	-	3.57	1.78	-	35.69
<i>Lc. lactis subsp. lactis</i>	-	-	-	-	1.78	-	1.78	1.78	-	1.78	-	-	-	-	-	7.12
<i>Aer. viridans</i>	1.78	7.12	1.78	1.78	1.78	-	-	1.78	1.78	3.57	1.78	-	5.36	3.57	-	32.1
<i>Lb. fermentum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.78	-	-	-	1.78
<i>Leuconostoc spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1.78	-	-	-	-	-	-	1.78
<i>Lb. curvatus subsp. curvatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.78	1.78
<i>Lb. plantarum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.78	-	-	-	-	-	1.78
<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.78	1.78

*İO:İç organ, K:Kas, D: Deri, *Lb. delb. subsp. delbrueckii*: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *Leu. mes. subsp. cremoris*: *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Lc. lactis subsp. lactis*: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Aer. viridans*: *Aerococcus viridans*, *Lb. fermentum*: *Lactobacillus fermentum*, *Lb. curvatus subsp. curvatus*: *Lactobacillus curvatus* subsp. *curvatus*, *Lb. plantarum*: *Lactobacillus plantarum*.

Toplam izolatin %7.12'ini *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* oluşturmuş olup, 2 izolat levrek ve kefalın kasından, 2 izolat ise kefal ve sazanın iç organından elde edilmiştir.

Lactobacillus fermentum sadece sazan derisinden (1 izolat) izole edilmiştir. Kefal derisinden ise 1 *Leuconostoc* spp. üyesi tespit edilmiştir (%1.78). Yayın derisinden ise 1 *Lactobacillus curvatus* subsp. *curvatus* ve 1 *Enterococcus faecium* üyesi izole edilmiştir. *Lactobacillus plantarum* sadece sazanın iç organından izole edilmiştir (1 izolat). Gökkuşuğu alabalığının iç organından *Lc. lactis* CLFP 101, *Lb. plantarum* CLFP 238 ve *Lb. fermentum* CLFP 242 izole edilmiştir (Balcazar ve ark., 2006). Jini ve ark. (2011) tatlı su balıklarının iç organ atıklarından 8 *Pediococcus acidilactici* üyesi ve 3 *Enterococcus faecalis* üyesi belirlemişlerdir.

4.2. Bakterilerin Moleküler Tanımlanması

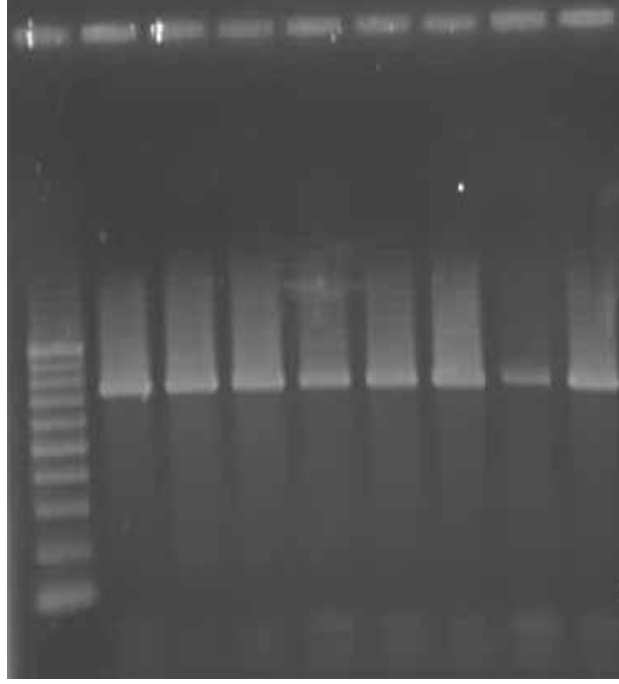
Araştırmada moleküler olarak toplam 8 laktik asit bakteri üyesi tanımlanmıştır (Tablo 4). Çalışmada API testi ile ön tanımlanan 6 türden *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* moleküler olarak tanımlanmıştır. Ayrıca API testi ile ön tanımlanamayan 5 izolattan ise *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus acidilactici*, *Enterococcus gallinarum* ve *Streptococcus* spp. olmak üzere 4 tür tanımlanmıştır. Çeşitli çalışmalarda *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* ve *Carnobacterium* gibi laktik asit bakteri üyelerinin sağlıklı balığın mide-bağırsak bölgesinin normal florasını oluşturduğu bulunmuştur (Sahnouni ve ark., 2012).

Tablo 4. PCR ile tanımlanan bakteri türleri.

Lactobacillus lactis subsp. *lactis*
Lactobacillus plantarum
Leuconostoc mesenteroides subsp. *cremoris*
Lactobacillus delbrueckii subsp. *lactis*
Lactobacillus brevis
Pediococcus acidilactici
Enterococcus gallinarum
Streptococcus spp.

Resim 28'de 1 ve 5 numaralar arasındaki 700 ve 800 baz çifti arasında görülen bantlar *Enterococcus gallinarum*'u, 6 numaralı bant *Lactobacillus brevis*'i, 7 numaralı bant *Lactobacillus plantarum*'u göstermektedir. Resim 29'de ise 1 nolu 700 ve 800 baz çifti arasında görülen bant *Streptococcus* spp., 2 500 ve 600 baz çifti arasında görülen numaralı

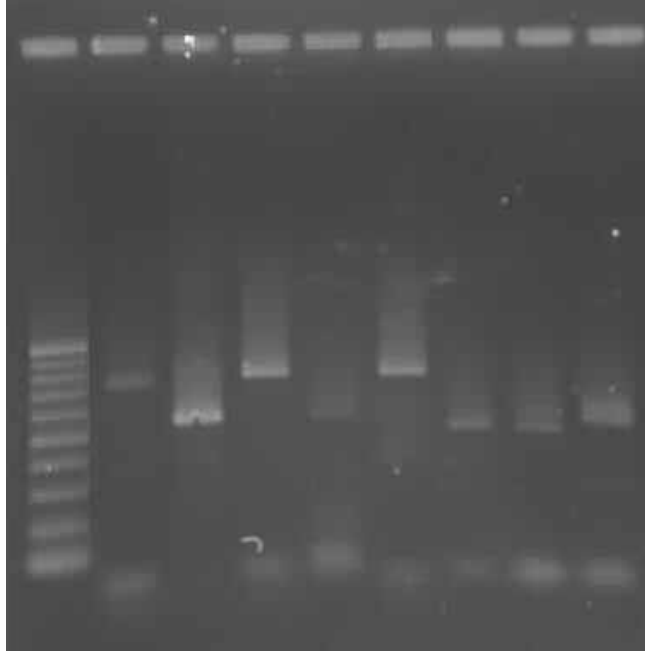
bant *Leuconostoc*, 3 nolu bant 800 baz çiftinde görülen *Pediococcus*, 4 nolu 600 ve 700 baz çifti arasında görülen bant *Lactobacillus lactis*, 800 baz çiftinde görülen 5 nolu bant *Lactobacillus delbrueckii*'i göstermektedir.



M: Markır 100 bç
1; *Enterococcus gallinarum*,
2; *Enterococcus gallinarum*,
3; -, 4; -, 5; *Enterococcus gallinarum*,
6; *Lactobacillus brevis*,
7; *Lactobacillus plantarum*,
8; *Bacillus thuringiensis*

Resim 28. Balık etinden izole edilen kolonilerin PCR'ının PCR'ının agaroz jel görüntüsü.

M 1 2 3 4 5 6 7 8



M; 100Bç,
1; Streptococcus spp.
2; *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*
3; *Pediococcus acidolactici*,
4; *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis*
5; *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*
6; *Clostridium* sp.
7; *Clostridium bifementum*
8; *Bacillus* sp.

Resim 29. Balık etinden izole edilen kolonilerin PCR'ının agaroz jel görüntüsü.

Üst sırada bant veren 1-3-5 numaralı örnekler 356F-1064R ile, alt sıradaki 2-4-6-7-8 ile kodlu olan bantlar ise 27F-519R ile çalışılmıştır.

Tanımlanan bazı laktik asit bakterilerine özgü DNA dizileri aşağıda verilmiştir.

***Enterococcus gallinarum* sekans dizilimi**

1 acacctacgg gaggcagcag tagggaatct tccgcaatgg acgaaagtct gaccgagcaa
61 cgccgcgtga gtgaagaagg ttctcgatc gtaaaactct gttgtagag aagaacaagg
121 atgagagtaa aatgtcatc cctgacggt atctaaccag aaagccacgg ctaactacgt
181 gccagcagcc gcggaatac gtaggtggca agcgtgtcc ggattattg ggcgtaaagc
241 gagcgcaggc ggttcttaa gtctgatgtg aaagcccccg gctcaaccgg ggagggtcat
301 tggaaactgg gagactgag tgcagaagag gagagtggaa ttcatgtgt agcggtgaaa
361 tgcgtagata tatggaggaa caccagtggc gaaggcggct ctctggtctg taactgacgc
421 tgaggctcga aagcgtgggg agcgaacagg attagatacc ctggtagtcc acgccgtaa
481 cgatgagtgc taagtgggtg gagggttcc gccctcagt gctgcagcaa acgattaag
541 cactccgct ggggagtacg accgcaaggt tgaactcaa aggaattgac gggggcccgc
601 acaagcggtg gagcatgtgg ttaattcga agcaacgcga agaacctac caggtctga
661 catccttga cactctaga gatagagctt cccctcggg ggcaaa

***Lactobacillus brevis* sekans dizilimi**

1 aactacggg aggcagcagt agggaatctt ccacaatgga cgaaagtctg atggagcaat
61 gccgcgtgag tgaagaagg ttctggctcg taaaactctg ttgttaaga agaacacctt
121 tgagagtaa tgtcaaggg ttgacggat ttaaccagaa agccacggct aactacgtg
181 cagcagccgc ggtaatacgt aggtggcaag cgtgtccgg atttattggg cgtaaagcga
241 ggcagggcg ttttaagt ctgatgtgaa agcctcggc ttagccggag aagtgcgtc
301 gaaactggg gactcgagtg cagaagagga cagtggaact cctgtgtc ggggggagt
361 cggttataaa agaatagac ccctgcagc gatggcggg ggattccgca gacctcgtc
421 aggtcaagt ccgccagtt cagaaacat tatactattt caccgtaggc ctcccatca
481 aaaataaaga acgcgtggt gctggattgc acccaataa ggcgtggaga agcttgcgta
541 cctacgtatt ggggggggg gcgtgccgg tgtaatgctc cggattttg gttcggacc
601 gctccccct tgaacagtgt gctgtctt ttgtctcc gttaccaaca accattttc
661 tgaagctggg gcctctctt ccctctgtc tgaattgt tcctctccc ccgtctgca
721 gan



***Lactobacillus plantarum* sekans dizilimi**

1 actcctacgg gaggcagcag tagggaatct tccacaatgg acgaaagtct gatggagcaa
61 cgccgcgtga gtgaagaagg gtttcggctc gtaaaactct gttgttaaag aagaacatat
121 ctgagagtaa ctgttcaggt attgacggta ttaaccaga aagccacggc taactacgtg
181 ccagcagccg cggaataacg taggtggcaa gcggtgtccg gattattgg gcgtaaagcg
241 agcgcaggcg gtttttaag tctgatgtga aagcctcgg ctcaaccgaa gaagtgcac
301 ggaaactggg aaacttgagt gcagaagagg acagtggaac tccatgtgta gcggtgaaat
361 gcgtagatat atggaagaac accagtggcg aaggcggctg tctggtctgt aactgacgt
421 gaggctcгаа agtatgggta gcaaacagga ttagataccc tggtagtcca taccgtaaac
481 gatgaatgct aagtgttga gggttccgc ccttcagtgc tgcagctaac gcattaagca
541 ttccgcctgg ggagtacggc cgcaaggctg aaactcaaag gaattgacgg gggcccgcac
601 aagcggtgga gcatgtggt taattcgaag ctacgcgaag aacctacca ggtcttgaca
661 tactatgcaa atctaagaga ttagacgttc ccttcggg

***Streptococcus* spp. sekans dizilimi**

1 agagttgat catggctcag gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgagc
61 ggacagaaga ggagcttgct ccttggagt cagcggcgga cgggtgagta acacgtgggc
121 aacctgcctt gtagcggggg ataactattg gaaacgatag ctaataccgc ataacaatgg
181 atgacacatg tcattattt gaaaggggca atgtctccac tacaagatgg acctgcgtt
241 tattagctag taggtgaggt aatggctcac ctaggcgacg atacatagcc gacctgagag
301 ggtgatcggc cacactggga ctgagacacg gccagactc ctacgggagg cagcagtagg
361 gaatctcgg caatgggggc aacctgacc gagcaacgcc gcgtgagtga agaaggctt
421 cggatcgtaa agctctgtg taagtcaaga acgggtgtga gagtgaaag ttcacactgt
481 gacgtagct taccagaaag ggacggctaa ctacgtgcca gcagccgcg taatacatct
541 ttctagaaga tctctacaa tattctcagc tgccatgaaa caattggtt tttgggtag
601 aaann



***Lactococcus lactis* subsp. *lactis* sekans dizilimi**

1 ccccggtcc acctatacc gcgggctggc tccaaagggt acctaccga cttcgggtgt
61 tacaaactct cgtggtgtga cgggcggtgt gtacaaggcc cggaacgta ttcaccgcgg
cgtgctgac gcgattact agcgattccg gcttcatgca ggcgagttgc agcctgcaat
ccgaactgag agaagcttta agagattgc atgacctgc gttcgtcctg agccatgac
241 aaactcta

***Leuconostoc mes. cremoris* sekans dizilimi**

1 cctattcgg ggcgctgctc gcggtcgac ggccgctcga ctgctgtgt gaggtgctg
61 ccagcgttca atctgagcca ggatcaaact ttaa

4.3. Fermantasyon testi

Fermantasyon testi için hazırlanan örneklerin başlangıç pH değeri ortalama 6.39 olarak bulunmuştur (Tablo 5). 24 saatlik inkübasyon sonunda pH da hızlı düşüşler gözlenmiştir. En hızlı düşüş 4.85 ile *Enterococcus gallinarum*' da gözlenmiştir.

Tablo 5. Laktik asit bakterilerinin fermantasyon yetenekleri.

	pH				
	0.gü n	24 saat	48 saat	72 saat	96 saat
<i>Enterococcus gallinarum</i>		4.85	4.18	3.96	3.87
<i>Streptococcus</i> spp		5.11	4.21	3.98	3.83
<i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>		5.13	4.47	4.19	4.10
<i>Lactobacillus brevis</i>		5.37	4.25	3.97	3.87
<i>Lactobacillus plantarum</i>	6.39	5.72	4.57	3.98	3.86
<i>Pediococcus acidilactici</i>		5.39	4.23	3.96	3.94
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>		5.21	4.30	4.04	3.97
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>		5.22	4.37	4.16	3.97

En yüksek pH değeri ise 5.72 olarak *Lactobacillus plantarum*'da gözlenmiştir. 48 saat sonunda *Lactobacillus plantarum* dışında test edilen tüm laktik asit bakteri izolatları pH'ı 4.5'in altına düşürmüştür. 48 saatlik inkübasyonda *Enterococcus gallinarum* ve *Streptococcus* fermentasyonda en düşük pH'ya yol açan bakteri olmuştur.

72 saat sonunda *Streptococcus* spp., *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Pd. acidilactici* ve *Ent. gallinarum* türlerinin pH'ı 4'ün altına indirdikleri gözlenmiştir. 96 saatlik inkübasyon sonunda *Streptococcus* spp., *Lb. plantarum*, *Lb. brevis* ve *Ent. gallinarum*'un pH'ı düşürmede en yetenekli türler olduğu gözlenmiştir.

Projede bu aşamadan sonra fermentasyon testine göre seçilen beş laktik asit bakterisi ile; iskarta bir tür olan *Equulites klunzingeri* (eksi balığı), ekonomik değeri az ve istilacı bir tatlı su balığı türü olan *Caracius gibelio* ve işleme sanayi atıkları olmak üzere üç ayrı ham materyal kullanılarak silajlar hazırlanmıştır. Ayrıca her ham materyalde kontrol amaçlı olarak % 3 formik asit kullanımı ile asit silajlar da kurulmuştur. Böylece araştırmada, bir asit (formik asit) ve beş bakteri (*Streptococcus* spp., *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Pd. acidilactici* ve *Ent. gallinarum*) olmak üzere her ham materyalde (*Equulites klunzingeri*,

Caracius gibelio ve işleme atıkları) altı grup silaj denemesi gerçekleştirilerek, toplamda 18 grup silaj kurulmuştur.

Buna göre hazırlana silaj gruplar şöyle isimlendirilmiştir. *Equulites klunzingeri* ile hazırlanan örnekler: **EFA**: *Equulites klunzingeri* Formik Asit; **EPL**: *Equulites klunzingeri Lb. plantarum*; **EAC**: *Equulites klunzingeri Pd. acidilactici*; **EGL**: *Equulites klunzingeri Ent. gallinarum*; **EBR**: *Equulites klunzingeri Lb. brevis* **EST**: *Equulites klunzingeri Streptococcus* spp.. *Caracius gibelio* ile hazırlana örnekler: **CFA**: *Caracius gibelio* Formik Asit; **CPL**: *Caracius gibelio Lb. plantarum*; **CAC**: *Caracius gibelio Pd. acidilactici*; **CGL**: *Caracius gibelio Ent. gallinarum*; **CBR**: *Caracius gibelio Lb. brevis* **CST**: *Caracius gibelio Streptococcus* spp.. İşleme atıkları ile hazırlanan örnekler: **AFA**: Atık Formik Asit; **APL**: Atık *Lb. plantarum*; **AAC**: Atık *Pd. acidilactici*; **AGL**: Atık *Ent. gallinarum*; **ABR**: Atık *Lb. brevis* **AST**: Atık *Streptococcus* spp..

4.4. Silajların pH değişimleri

Araştırmada hazırlanan asit ve fermente silajlar ilk iki hafta her gün düzenli olarak karıştırılmışlar ve pH değerleri ölçülmüştür. *Equulites klunzingeri*, *Caracius gibelio* ve levrek atıklarından kurulan asit ve bakteri silajların pH değişimleri Tablo 6, 7 ve 8’da verilmiştir.

Tablo 6. *Equulites klunzingeri* ile hazırlanan asit ve bakteri silajların pH değerleri.

	EFA	EPL	EAC	EGL	EBR	EST
0. Gün	3.42±0.03 ^{aA}	6.43±0.01 ^{mB}	6.56±0.01 ^{kD}	6.46±0.00 ^{kBC}	6.52±0.02 ^{iCD}	6.47±0.04 ^{iBC}
1. Gün	3.75±0.01 ^{cA}	6.10±0.02 ^{iC}	5.97±0.01 ^{jB}	6.15±0.06 ^{iC}	6.23±0.03 ^{kD}	6.00±0.05 ^{iB}
2. Gün	3.77±0.04 ^{dA}	5.45±0.01 ^{kC}	5.52±0.02 ^{iC}	5.49±0.01 ^{iC}	5.32±0.02 ^{jB}	5.34±0.04 ^{hB}
3. Gün	3.73±0.00 ^{bA}	5.21±0.01 ^{jE}	5.18±0.01 ^{hD}	5.20±0.01 ^{hDE}	5.06±0.02 ^{iB}	5.09±0.01 ^{gC}
4. Gün	3.82±0.01 ^{eA}	5.06±0.02 ^{iC}	5.08±0.02 ^{gC}	5.17±0.00 ^{ghE}	4.99±0.02 ^{hB}	5.13±0.02 ^{gD}
5. Gün	3.87±0.01 ^{fA}	4.99±0.01 ^{hC}	5.00±0.01 ^{fC}	5.11±0.01 ^{gE}	4.96±0.01 ^{gB}	5.09±0.00 ^{gD}
6. Gün	3.91±0.01 ^{hA}	4.90±0.00 ^{gB}	4.93±0.02 ^{eC}	5.01±0.01 ^{iD}	4.90±0.00 ^{gB}	5.00±0.00 ^{iD}
7. Gün	3.86±0.01 ^{fA}	4.85±0.00 ^{fC}	4.92±0.01 ^{eE}	4.97±0.00 ^{ff}	4.84±0.00 ^{fb}	4.86±0.00 ^{eD}
8. Gün	3.91±0.01 ^{hA}	4.70±0.04 ^{eB}	4.74±0.08 ^{dB}	4.72±0.07 ^{eB}	4.72±0.04 ^{eB}	4.70±0.06 ^{dB}
9. Gün	3.89±0.01 ^{gA}	4.55±0.05 ^{dB}	4.67±0.06 ^{cC}	4.63±0.05 ^{dB}	4.63±0.05 ^{dB}	4.57±0.09 ^{cB}
10. Gün	3.85±0.00 ^{fA}	4.45±0.09 ^{cB}	4.63±0.07 ^{cC}	4.60±0.03 ^{dC}	4.43±0.01 ^{cB}	4.58±0.08 ^{cC}
11. Gün	3.94±0.02 ^{iA}	4.45±0.02 ^{cB}	4.55±0.06 ^{bC}	4.39±0.01 ^{cB}	4.41±0.06 ^{cB}	4.40±0.05 ^{bb}
12. Gün	3.91±0.00 ^{hA}	4.34±0.03 ^{bB}	4.45±0.01 ^{aD}	4.34±0.03 ^{bcB}	4.33±0.03 ^{bB}	4.38±0.02 ^{abC}
15. Gün	3.95±0.01 ^{iA}	4.22±0.02 ^{aB}	4.39±0.02 ^{aE}	4.26±0.01 ^{aC}	4.22±0.02 ^{aB}	4.32±0.01 ^{aD}
21. Gün	3.95±0.02 ^{iA}	4.23±0.03 ^{aB}	4.40±0.03 ^{aE}	4.28±0.01 ^{abC}	4.24±0.03 ^{aB}	4.33±0.00 ^{aD}

EFA: *Equulites klunzingeri* Formik Asit; EPL: *Equulites klunzingeri Lb. plantarum*; EAC: *Equulites klunzingeri Pd. acidilactici*; EGL: *Equulites klunzingeri Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri Streptococcus* spp Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-m) depolamaya bağlı gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05). Aynı satırda yer alan farklı harfler (A-E) silaja yapımına bağlı gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=4.

Tablo 7. *Caracius gibelio* ile hazırlanan asit ve bakteri silajların pH değerleri.

CFA	CPL	CAC	CGL	CBR	CST
-----	-----	-----	-----	-----	-----

0. Gün	3.62±0.04 ^{cdA}	6.12±0.01 ^{iB}	6.12±0.03 ^{iB}	6.13±0.01 ^{iB}	6.18±0.02 ^{jB}	6.15±0.00 ^{iB}
1. Gün	3.55±0.02 ^{aA}	4.82±0.03 ^{hB}	4.92±0.02 ^{hC}	4.93±0.01 ^{hC}	5.32±0.03 ^{iE}	4.98±0.01 ^{iD}
2. Gün	3.60±0.02 ^{bcdA}	4.50±0.02 ^{gB}	4.50±0.04 ^{gB}	4.56±0.00 ^{gC}	4.59±0.04 ^{hC}	4.49±0.02 ^{hB}
3. Gün	3.60±0.02 ^{bcdA}	4.40±0.01 ^{fb}	4.41±0.01 ^{fb}	4.41±0.01 ^{fb}	4.47±0.01 ^{gC}	4.40±0.03 ^{gB}
4. Gün	3.58±0.00 ^{bA}	4.36±0.01 ^{ec}	4.37±0.01 ^{ed}	4.35±0.00 ^{eb}	4.42±0.00 ^{fe}	4.37±0.00 ^{fd}
5. Gün	3.59±0.01 ^{bcA}	4.34±0.02 ^{deC}	4.30±0.02 ^{cdB}	4.39±0.00 ^{fd}	4.40±0.01 ^{efd}	4.35±0.01 ^{efC}
6. Gün	3.36±0.00 ^{dA}	4.32±0.01 ^{cdC}	4.28±0.01 ^{bcB}	4.35±0.01 ^{ed}	4.38±0.00 ^{deE}	4.35±0.01 ^{efd}
7. Gün	3.59±0.00 ^{bcA}	4.30±0.00 ^{ccD}	4.24±0.01 ^{ab}	4.31±0.00 ^{dD}	4.34±0.01 ^{ce}	4.29±0.00 ^{abc}
8. Gün	3.62±0.03 ^{cdA}	4.34±0.02 ^{deB}	4.31±0.04 ^{dB}	4.31±0.04 ^{dB}	4.35±0.02 ^{cdB}	4.32±0.03 ^{bcdB}
9. Gün	3.63±0.02 ^{dA}	4.32±0.00 ^{cdC}	4.30±0.00 ^{cdB}	4.30±0.00 ^{dB}	4.35±0.01 ^{cdD}	4.32±0.01 ^{cdC}
10. Gün	3.66±0.00 ^{eA}	4.32±0.01 ^{cdC}	4.28±0.01 ^{bcdB}	4.28±0.02 ^{cb}	4.33±0.01 ^{cd}	4.31±0.01 ^{bcdC}
11. Gün	3.94±0.02 ^{cdA}	4.45±0.02 ^{ee}	4.29±0.02 ^{cdC}	4.25±0.01 ^{bb}	4.34±0.02 ^{cd}	4.40±0.05 ^{deD}
12. Gün	3.63±0.03 ^{dA}	4.31±0.00 ^{cc}	4.23±0.01 ^{ab}	4.22±0.01 ^{ab}	4.33±0.01 ^{cd}	4.32±0.00 ^{cdC}
15. Gün	3.66±0.01 ^{eA}	4.22±0.01 ^{ab}	4.25±0.03 ^{abBC}	4.24±0.01 ^{abB}	4.23±0.03 ^{ab}	4.28±0.02 ^{aC}
21. Gün	3.66±0.00 ^{eA}	4.25±0.03 ^{bb}	4.25±0.01 ^{abB}	4.26±0.02 ^{bcB}	4.26±0.04 ^{bb}	4.30±0.03 ^{abcB}

CFA: *Caracius gibelio* Formik Asit; CPL: *Caracius gibelio* *Lb. plantarum*; CAC: *Caracius gibelio* *Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius gibelio* *Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius gibelio* *Lb. brevis* CST: *Caracius gibelio* *Streptococcus* spp

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-j) depolamaya bağlı gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

Aynı satırda yer alan farklı harfler (A-E) silaja yapımına bağlı gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=4.

Tablo 8. İşleme sanayi atıkları ile hazırlanan asit ve bakteri silajların pH değerleri.

	AFA	APL	AAC	AGL	ABR	AST
0. Gün	3.42±0.02 ^{aA}	6.27±0.01 ^{kD}	6.11±0.01 ^{kB}	6.17±0.04 ^{iBC}	6.22±0.05 ^{kCD}	6.27±0.03 ^{iD}
1. Gün	3.65±0.01 ^{cA}	5.79±0.04 ^{iD}	5.46±0.01 ^{iB}	5.80±0.05 ^{kD}	5.81±0.03 ^{iD}	5.57±0.04 ^{iC}
2. Gün	3.67±0.00 ^{cA}	5.11±0.01 ^{iC}	5.11±0.01 ^{iC}	5.04±0.02 ^{iB}	5.09±0.00 ^{iC}	5.06±0.00 ^{hB}
3. Gün	3.70±0.00 ^{dA}	5.01±0.01 ^{hC}	5.06±0.01 ^{hE}	4.97±0.02 ^{iB}	5.01±0.01 ^{hC}	5.04±0.01 ^{hD}
4. Gün	3.71±0.01 ^{dA}	5.01±0.00 ^{hD}	5.05±0.01 ^{hE}	4.93±0.01 ^{ghB}	5.01±0.01 ^{hD}	4.99±0.01 ^{gC}
5. Gün	3.76±0.00 ^{efA}	5.01±0.00 ^{hC}	5.05±0.01 ^{ghD}	4.91±0.01 ^{gB}	5.00±0.00 ^{hC}	4.90±0.02 ^{iB}
6. Gün	3.80±0.02 ^{ghA}	5.00±0.00 ^{hD}	5.00±0.00 ^{gD}	4.82±0.01 ^{eb}	4.92±0.01 ^{gC}	4.83±0.00 ^{eb}
7. Gün	3.75±0.00 ^{eA}	4.83±0.00 ^{gB}	4.96±0.01 ^{fe}	4.83±0.00 ^{eb}	4.91±0.00 ^{gD}	4.88±0.00 ^{fc}
8. Gün	3.79±0.01 ^{fgA}	4.77±0.01 ^{fb}	4.81±0.08 ^{eb}	4.94±0.01 ^{hiC}	4.95±0.02 ^{gC}	4.91±0.03 ^{fc}
9. Gün	3.79±0.01 ^{fgA}	4.65±0.01 ^{eb}	4.71±0.02 ^{dc}	4.87±0.02 ^{fe}	4.80±0.03 ^{fd}	4.73±0.04 ^{dc}
10. Gün	3.82±0.01 ^{hiA}	4.54±0.02 ^{db}	4.54±0.02 ^{cb}	4.73±0.02 ^{de}	4.67±0.03 ^{ed}	4.62±0.03 ^{cc}
11. Gün	3.85±0.02 ^{ia}	4.55±0.02 ^{dc}	4.47±0.02 ^{bb}	4.60±0.01 ^{cd}	4.59±0.02 ^{dd}	4.59±0.01 ^{cd}
12. Gün	3.61±0.03 ^{ba}	4.51±0.02 ^{cdD}	4.46±0.03 ^{bb}	4.61±0.04 ^{ce}	4.47±0.02 ^{bcB}	4.55±0.02 ^{bd}
15. Gün	3.77±0.04 ^{efgA}	4.38±0.02 ^{bb}	4.39±0.06 ^{ab}	4.46±0.02 ^{bb}	4.39±0.05 ^{bb}	4.40±0.06 ^{ab}
21. Gün	3.75±0.03 ^{eA}	4.34±0.04 ^{ab}	4.35±0.03 ^{ab}	4.40±0.03 ^{ab}	4.35±0.04 ^{ab}	4.38±0.05 ^{ab}

AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent. gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus* spp

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-j) depolamaya bağlı gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

Aynı satırda yer alan farklı harfler (A-E) silaja yapımına bağlı gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=4.

Araştırmada, pH değeri başlangıçta asit silajlarda 3.42 ile 3.62 arasında ölçülmüşken, bakteri silajlarda 6.11 ile 6.56 arasında ölçülmüştür. Formik asitle kurulan asit silajlarda doğal olarak gözlenen bu ani düşüğe karşın, bakterilerle kurulan silajlarda da pH değerinin günler içerisinde istatistiksel olarak önemli derecede hızlı şekilde düştüğü görülmektedir (p<0.05). Silajlar için önerilen 4.5 pH değerine (Espe and Lied, 1999) *Equulites* ve atıklardan hazırlanan bakteri silaj gruplarında ilk iki hafta, *Caracius* grubunda ise ilk birkaç gün içerisinde ulaşıldığı ileren zamanlarda da pH değerinin bu değeri aşmadığı belirlenmiştir. Balık veya atıkları yalnızca küçük miktarlarda şeker (glikojen) içermektedirler.

Fermentasyonun gerçekleşebilmesi yani laktik asit bakterilerinin gelişmeleri için ortamda şeker gibi bir enerji kaynağının olması gerekmektedir. Projede, bu nedenle bakteri silaj gruplarına melas ilavesi yapılmıştır. Şeker kaynağının varlığında bakteri gruplarının pH değerini başarılı bir şekilde düşürdüğü görülmektedir. Bakteri silajlardaki pH düşüşü şekerin açık bir şekilde kullanıldığını, pH'ın düşmesini sağlayan organik asitlerin üretildiğini ve bozucu mikroorganizmaların gelişmelerinin önlendiğini göstermiştir (Özyurt ve ark., 2016).

4.5. Silajların Mikrobiyolojik Değerlendirilmesi

4.5.1. Patojen Varlığı

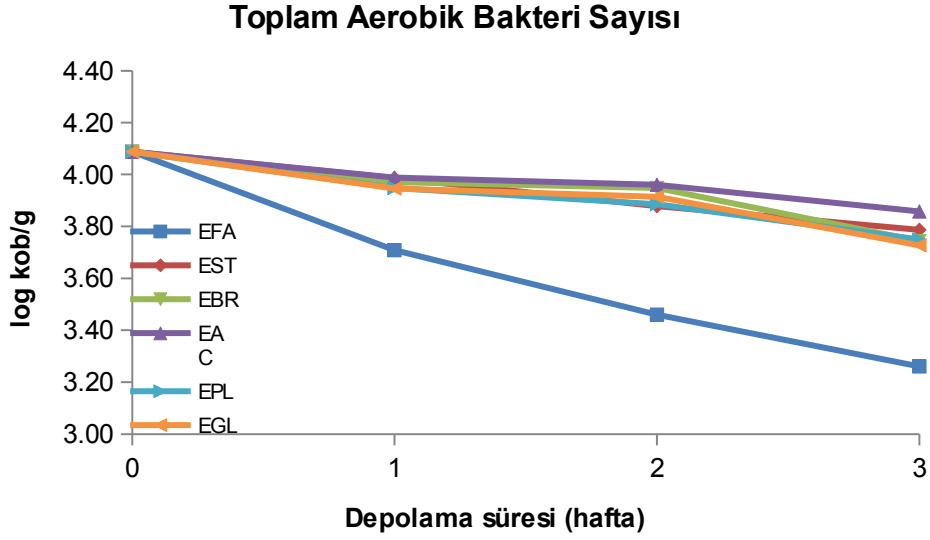
Çalışmada *E. coli*, *Salmonella* spp., *Staph. aureus* and *Listeria* spp. hiçbir silaj grubunda tespit edilmemiştir.

4.5.2. Toplam Aerobik Bakteri Sayısı

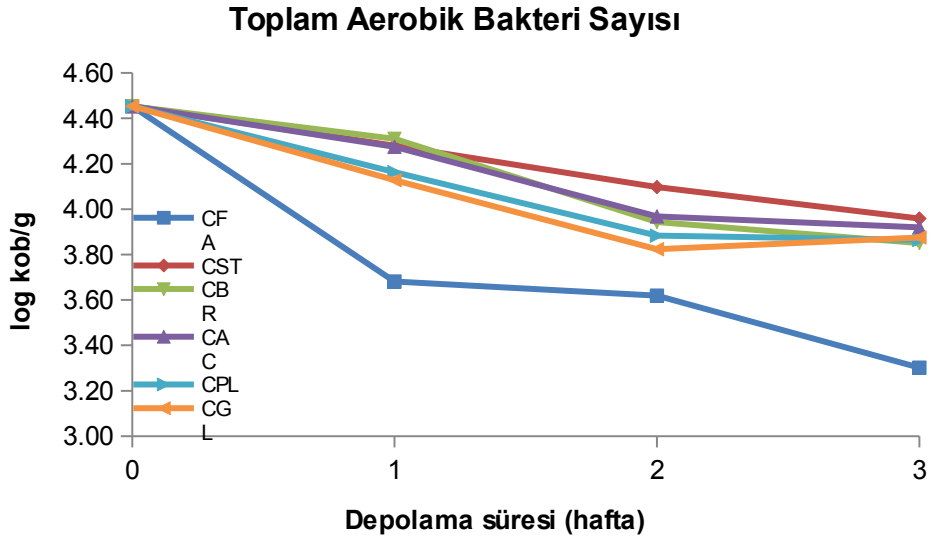
Şekil 2, 3 ve 4 sırasıyla *Equulites klunzingeri*, *Caracius gibelio* ve levrek işleme atığından yapılan balık silajının toplam aerobik bakteri sayısını göstermektedir. İşleme atığının başlangıç aerobik bakteri sayısı 4.3 log kob/g iken, *Caracius gibelio* ve *Equulites klunzingeri* 4.4 ve 4.1 log kob/g başlangıç aerobik bakteri sayısına sahip olmuştur. Formik asit uygulaması fermentasyonun ilk haftasında tüm gruplarda toplam aerobik sayısında önemli düşümlere yol açmıştır. Depolama sonunda bu değerler formik asit uygulamasında işleme atığı (AFA), *Caracius gibelio* (CFA) ve *Equulites klunzingeri* (EFA) grubunda sırasıyla 3.6, 3.3 ve 3.3 log kob/g'a ulaşmıştır.

Zahar ve ark. (2002) taze sardalya atığında toplam bakteri sayısının 4.5×10^5 olduğunu rapor etmiştir. Formik asit uygulaması fermentasyonun ilk haftasında tüm gruplarda toplam aerobik sayısında önemli düşümlere yol açmıştır. Ancak depolama sonunda bu değerler formik asit uygulamasında işleme atığı (AFA), *Caracius gibelio* (CFA) ve *Equulites klunzingeri* (EFA) grubunda sırasıyla 5.8, 5.3 ve 5.9 log kob/g'a ulaşmıştır. Bhaskar ve Mahendrarkar (2007) balık iç organ atığı asit silajında depolamanın 4. haftasına kadar toplam bakteri sayısında önemli düşümler gözlemlenmiştir. Delgado ve ark (2008) uskumru silajında aerobik bakteri sayısında önemli düşümlerin olduğunu bildirmişlerdir. Tanuja ve ark. (2014) formik asit+hidroklorik asit+ BHT ve sadece BHT içeren tatlı su balığı işleme atığından hazırlanan silajın toplam bakteri yükünün depolamanın 2. gününde önemli düzeyde azaldığı, depolamanın 90. gününde ise toplam canlı sayımında 1 log azalma kaydedildiğini

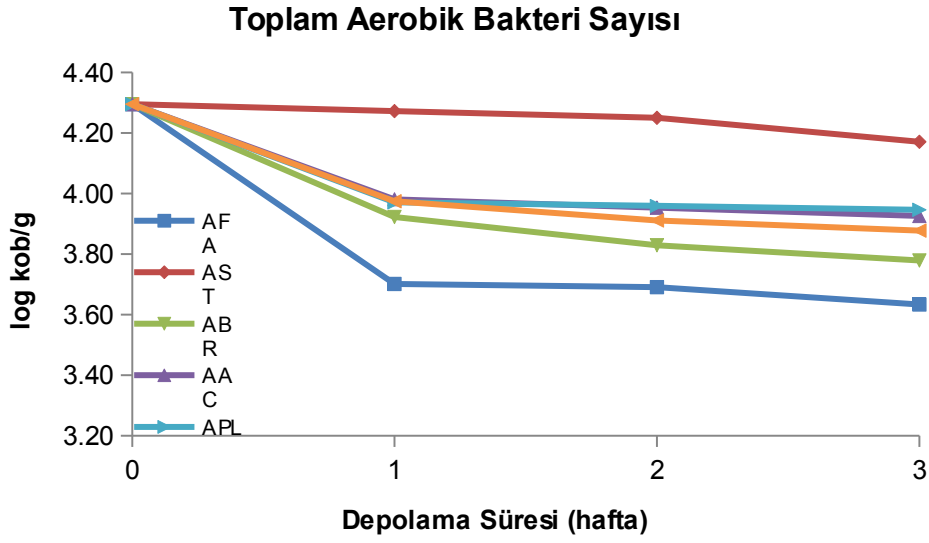
bildirmişlerdir. Ramasubburayan ve ark. (2013) deniz balığı işleme atığı formik asit silajında depolamanın 30. gününde toplam bakteri yükünde 1 logaritmik düşüş (5 log kob/g'dan 4 log kob/g) rapor etmişlerdir.



Şekil 2. *Equulites klunzingeri* ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam aerobik bakteri sayısı.



Şekil 3. *Caracius gibelio* ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam aerobik bakteri sayısı.

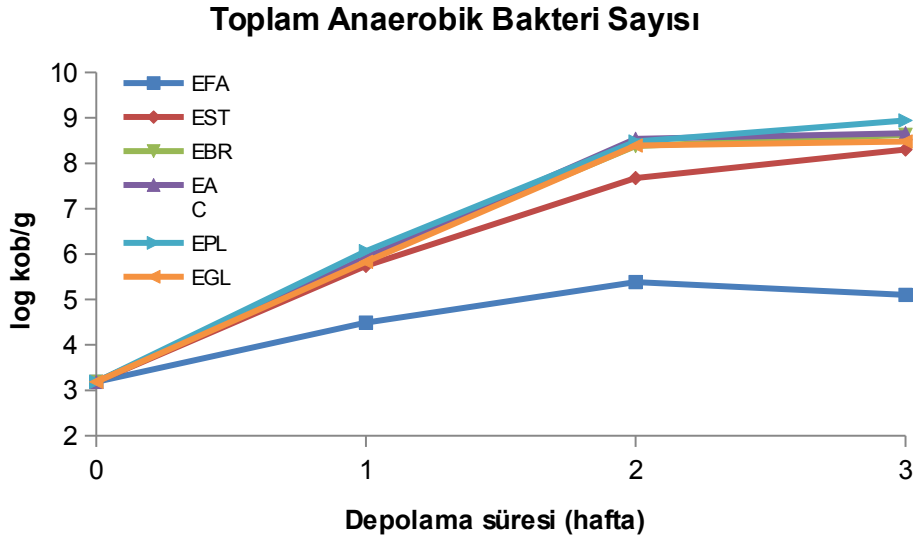


Şekil 4. İşleme atığı ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam aerobik bakteri sayısı.

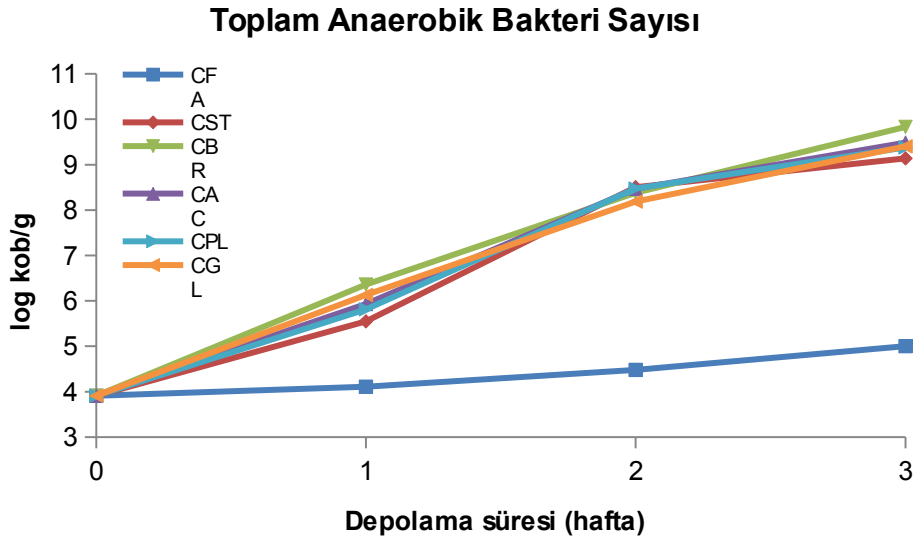
Laktik asit bakterisi uygulanan işleme atığı silajında depolama sonunda en yüksek bakteriyel yük *Streptococcus* spp. (4.17 log kob/g, AST), en düşük bakteriyel gelişim *Lb. brevis* (ABR) ve *Ent. gallinarum* (AGL) (3.8 ve 3.9 log kob/g) grubunda gözlenmiştir. *Caracius gibelio* ve *Equulites klunzingeri*' den yapılan balık silajında ise bu değerler sırasıyla 3.8 (*Lb. Brevis*, CBR) ve 4.0 log kob/g (*Streptococcus* spp., CST), 3.7 (*Ent. Gallinarum*, EGL ve *Lb.brevis*, EBR) ve 3.9 log kob/g (*Ped. Acidolactici*, EAC) arasında değişkenlik göstermiştir.

4.5.3. Toplam Anaerobik Bakteri Sayısı

Şekil 5, 6 ve 7 silajlardaki toplam anaerobik bakteri sayısını göstermektedir. Başlangıç anaerobik bakteri sayısı işleme atığında 3.73 log kob/g iken, *Equulites klunzingeri* ve *Caracius gibelio*'da bu değerler sırasıyla 3.19 ve 3.91 log kob/g olmuştur. Anaerobik bakteri sayısı incelenen tüm gruplarda depolama süresine bağlı olarak artış göstermiştir. Depolamanın 2. haftasından itibaren tüm gruplarda anaerobik bakteri sayısında önemli artışlar gözlenmiştir. Formik asit uygulanan silajlarda depolama sonunda anaerobik bakteri sayısı *Equulites klunzingeri* (EFA), *Caracius gibelio* (CFA) ve işleme atığında (AFA) sırasıyla 5.1, 5.0 ve 5.0 log kob/g olmuştur.

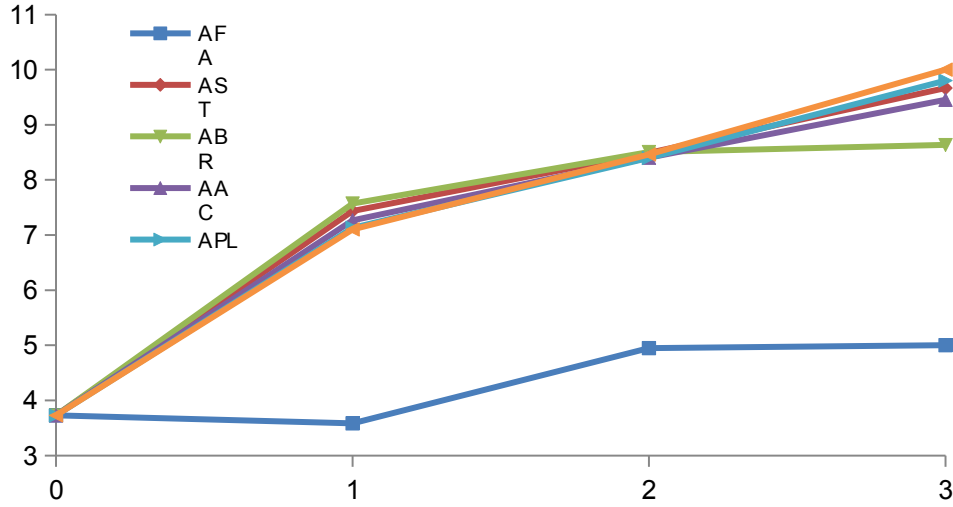


Şekil 5. *Equulites klunzingeri* ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam anaerobik bakteri sayısı.



Şekil 6. *Caracius gibelio* ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam anaerobik bakteri sayısı.

Toplam Anaerobik Bakteri Sayısı

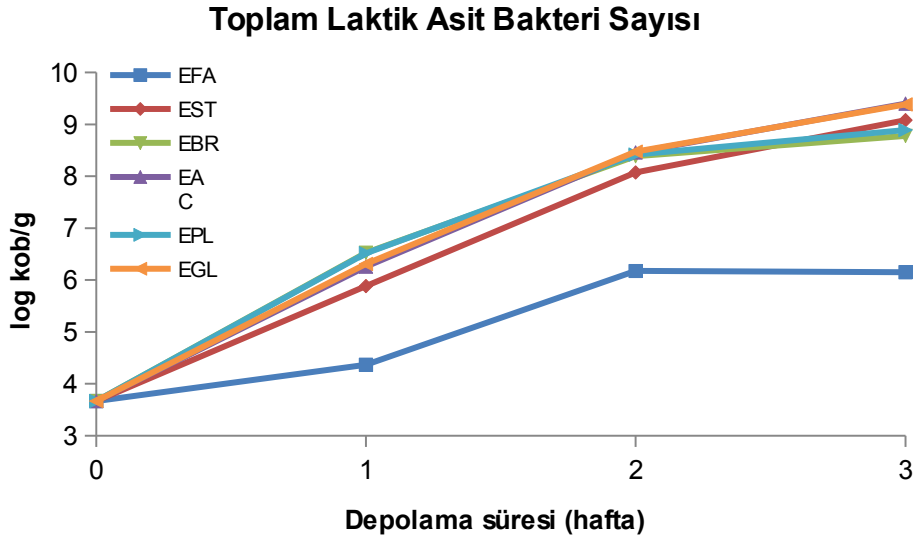


Şekil 7. İşleme atığı ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam anaerobik bakteri sayısı.

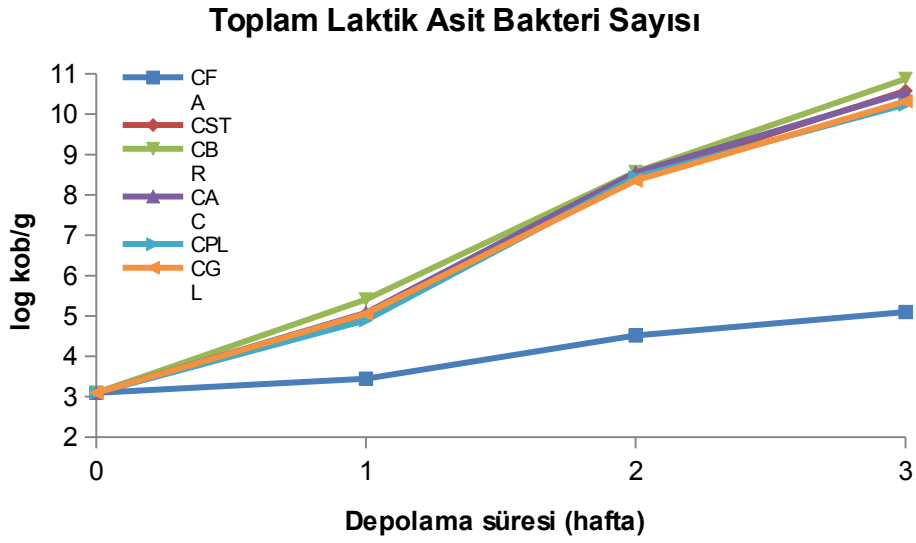
Laktik asit bakterisi uygulanan işleme atığı silajında depolama süresince en yüksek anaerobik bakteri sayısı *Ent. Gallinarum* (AGL), *Streptococcus* spp. (AST) ve *Lb. plantarum* 'da (APL) gözlenmiş olup, depolama sonunda bu değerler tüm gruplar için 8.6 log kob/g'ın üzerinde olmuştur. Bakteri uygulanan *Equulites klunzingeri* silajının toplam anaerobik bakteri sayısı depolama süresince en düşük *Streptococcus* spp. (EST) ile gözlenirken, en yüksek *Lb. Plantarum* (EPL) ve *Ped. acidolactici* (EAC) grubunda gözlenmiştir. *Caracius gibelio* silajının en düşük anaerobik sayısı *Streptococcus* spp. (CFA) ve *Lb. plantarum* (CPL) uygulanan grupta gözlenmesine karşın depolama sonunda bakteriyel yük tüm laktik asit bakterisi uygulanan grupta 9.8 log kob/g'ın altında kalmıştır.

4.5.4. Toplam Laktik Asit Bakteri Sayısı

Equulites klunzingeri, *Caracius gibelio* ve işleme atığının başlangıç laktik asit bakteri sayısı 3.7, 3.1 ve 3.2 log kob/g olmuştur (Şekil 8-10). Depolama süresince formik asit uygulanan silaj örneklerinde bu değerler *Equulites klunzingeri* (EFA), *Caracius gibelio* (CFA) ve işleme atığı (AFA) için sırasıyla 6.1, 5.1 ve 6.2 log kob/g'ın altında kalmıştır.

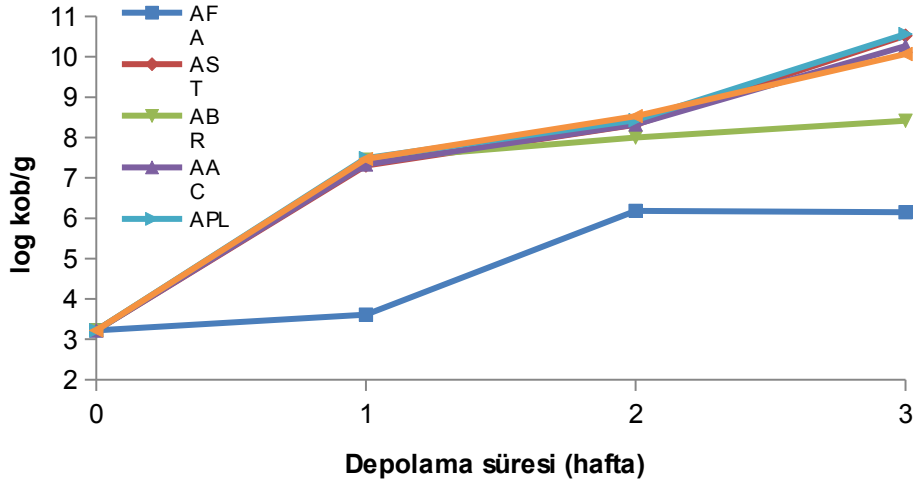


Şekil 8. *Equulites klunzingeri* ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam laktik asit bakteri sayısı.



Şekil 9. *Caracius gibelio* ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam laktik asit bakteri sayısı.

Laktik Asit Bakteri Sayısı



Şekil 10. İşleme atığı ile hazırlanan asit ve fermente silajların toplam laktik asit bakteri sayısı.

Formik asit uygulaması dışında, *Equulites klunzingeri* silajı depolama süresince en düşük laktik asit bakteri sayısına sahip grup olmuştur (<9.5 log kob/g). İşleme atığı silajında en yüksek laktik asit bakteri sayısı depolama sonunda 10.6 ve 10.5 log kob/g ile sırasıyla *Lb. plantarum* (APL) ve *Streptococcus* spp. (AST) ile gözlenmiştir. Ndaw ve ark. (2008) %5 NaCl ve % 4 glukoz konsantrasyonunda sardalya filetosunu *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* ile 30°C' de 2 hafta fermente etmiştir. Çalışmada laktik asit bakteri miktarının fermentasyon süresince artış gösterdiği bulunmuştur. Formik asit dışında, *Lb. brevis* ile muamele edilen işleme atığı silajı (ABR) depolama sonunda en düşük laktik asit bakteri sayısına sahip grup olmuşken, *Caracius gibelio* silajında *Lb. brevis* (CBR) depolama sonunda en yüksek toplam laktik asit bakterisine sahip (10.9 log kob/g) grup olmuştur. *Streptococcus* spp. (CST) ve *Ped. Acidolactici* (CAC) *Caracius gibelio* silajında bu değerler sırasıyla 10.6 ve 10.5 log kob/g olmuştur.

4.5.5. Maya ve küf sayımı

Analiz edilen hiçbir örnekte maya ve küfe rastlanmamıştır. Maya ve küf gelişiminin engellenmesi silajlarda potasyum sorbat kullanımından kaynaklanabilmektedir.

4.5.6. Toplam koliform sayımı

Equulites klunzingeri, *Caracius gibelio* ve işleme atığında başlangıç koliform sayısı sırasıyla 2.2, 3.0 ve 3.5 log kob/g olmuştur. Silaj koliform gelişimini önemli düzeyde

engellemiş olup, depolama süresince koliform bakterilerine rastlanmamıştır. Sardalya filetosunun *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* ile 2 haftalık fermentasyonu sonucunda fermente balıkta koliform bulunamamıştır (Ndaw ve ark. 2008). Uskumru silajında koliform sayısında önemli düşüşlerin olduğu gözlemlenmiştir (Delgado ve ark., 2008). Fermente ürünlerde fermentasyon işlemi sonunda koliform gibi indikatör mikroorganizmaların eliminasyonu asidifikasyon ve/veya laktik asit bakterileri tarafından üretilen bazı inhibitör bileşiklerden kaynaklanır (Ndaw ve ark., 2008).

4.6. Silajların Kimyasal Değerlendirilmesi

4.6.1. Non-protein nitrojen (NPN)

Protein çözünürlüğünü ifade eden non-protein nitrojen (NPN) değerleri silajların kurulumunu izleyen ilk üç hafta boyunca ölçülmüş ve Tablo 9'de sunulmuştur. NPN serbest amino asitler ve kısa zincirli peptidlerin serbest kalmasına neden olan protein yıkımını ifade etmektedir. Bu hidrolizin derecesi ham materyalin yapısı, sıcaklık ve depolama zamanı gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Depolama zamanı ve sıcaklığın artması NPN değerinde de artışlara neden olmaktadır (Özyurt ve ark., 2016; Bhaskar ve Mahendrakar, 2007; Espe ve Lied, 1999).

Tablo 9. Depolama periyodu süresince asit ve fermente silajlarda belirlenen non-protein nitrojen (NPN) değerleri.

	Silaj Grupları	Ham	I. Hafta	II. Hafta	III. Hafta
<i>Equulites klunzingeri</i>	EFA		0.67±0.00 ^{ca}	0.48±0.03 ^{ba}	0.47±0.00 ^{ba}
	ELP		0.65±0.03 ^{ba}	0.68±0.01 ^{bc}	0.63±0.05 ^{bb}
	EAC	0.14±0.01 ^a	0.67±0.03 ^{cAB}	0.54±0.03 ^{baB}	0.67±0.03 ^{cb}
	EGL		0.76±0.02 ^{bc}	0.65±0.07 ^{bcB}	0.67±0.03 ^{bcB}
	EBR		0.68±0.04 ^{cAB}	0.53±0.02 ^{baB}	0.63±0.03 ^{cb}
	EST		0.73±0.00 ^{cbC}	0.50±0.08 ^{ba}	0.64±0.01 ^{cb}
<i>Caracius gibelio</i>	CFA		0.28±0.00 ^{bcAB}	0.26±0.02 ^{ba}	0.31±0.01 ^{cbC}
	CLP		0.32±0.01 ^{cbC}	0.31±0.04 ^{cc}	0.26±0.00 ^{bb}
	CAC	0.07±0.00 ^a	0.31±0.01 ^{bcB}	0.29±0.02 ^{baB}	0.32±0.02 ^{bcB}
	CGL		0.34±0.05 ^{cc}	0.34±0.00 ^{cc}	0.15±0.01 ^{ba}
	CBR		0.23±0.00 ^{ba}	0.29±0.00 ^{cbC}	0.28±0.02 ^{cb}
	CST		0.34±0.00 ^{bc}	0.33±0.02 ^{bc}	0.38±0.08 ^{bc}
Atık	AFA		0.58±0.01 ^{bcB}	0.48±0.03 ^{ba}	0.45±0.07 ^{ba}
	ALP		0.61±0.06 ^{cc}	0.40±0.00 ^{ba}	0.46±0.03 ^{ba}
	AAC	0.09±0.00 ^a	0.39±0.00 ^{ba}	0.40±0.03 ^{ba}	0.54±0.05 ^{ca}
	AGL		0.61±0.02 ^{dbC}	0.45±0.01 ^{ba}	0.54±0.01 ^{ca}
	ABR		0.56±0.03 ^{cbC}	0.43±0.02 ^{ba}	0.46±0.01 ^{ba}
	AST		0.50±0.00 ^{bb}	0.48±0.06 ^{ba}	0.45±0.02 ^{ba}

EFA: *Equulites klunzingeri* Formik Asit; EPL: *Equulites klunzingeri* *Lb. plantarum*; EAC: *Equulites klunzingeri* *Pd. acidilactici*; EGL: *Equulites klunzingeri* *Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri* *Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri* *Streptococcus* spp
CFA: *Caracius gibelio* Formik Asit; CPL: *Caracius gibelio* *Lb. plantarum*; CAC: *Caracius gibelio* *Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius gibelio* *Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius gibelio* *Lb. brevis* CST: *Caracius gibelio* *Streptococcus* spp
AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent.gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus* spp

Aynı satırda yer alan farklı harfler (a-d) depolama süresince gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05). Aynı sütunda yer alan farklı harfler (A-C) aynı ham materyalden yapılmış silaj grupları arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p < 0.05). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Araştırmada, başlangıçta ham *Equulites*, *Caracius* ve atıklarda sırasıyla 0.14±0.01, 0.07±0.00 ve 0.09±0.00 olarak belirlenen NPN değerlerinin tüm gruplarda silaj oluşumuyla birlikte istatistiksel olarak önemli derecede yükseldiği saptanmıştır (p<0.05). Burada görülen ortalama verilere göre en düşük NPN değerlerinin ise *Caracius* ile hazırlanan silajlarda olduğu belirlenmiştir. Bu üç haftalık kısa süreli depolama zamanı içerisinde tüm gruplara genel olarak bakıldığında NPN değerlerinin başlangıç değerine göre önemli derecede yüksek olduğu, bir ve üçüncü haftalar içerisinde dalgalanmalar gösterdiği, fakat daha çok sabit kaldığı görülmektedir. Dapkevicius ve ark (1998) yaptıkları bir araştırmada fermente silajların asit silajlara göre daha düşük protein çözünürlük değerlerine sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Ancak bu çalışmada fermente ve asit silajlar arasında böyle bir ilişki belirlenememiştir. Araştırmada gruplar arasında gözlenen farklılıkların, grupların pH dereceleri ve mikrobiyal enzim aktivitelerindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.6.2. TBA

Araştırmada hazırlanan silajların kimyasal kalitelerini belirleyebilmek amacıyla lipitlerin acılaştırılmasının veya stabilitesinin bir göstergesi olan aldehit formasyonunun ölçümüne yarayan TBA analizleri gerçekleştirilmiştir. *Equulites klunzingeri*, *Caracius gibelio* ve levrek işleme atıklarından kurulan asit ve bakteri silajların TBA değerleri ve ilk üç haftadaki değişimleri Tablo 10'da görülmektedir.

Tablo 10. Depolama periyodu süresince asit ve fermente silajlarda belirlenen TBA (mg MA/kg) değerleri.

Silaj Grupları	Ham	I. Hafta	II. Hafta	III. Hafta	
<i>Equulites klunzingeri</i>	EFA		2.28±0.05 ^{dC}	1.55±0.03 ^{bC}	1.85±0.02 ^{cC}
	ELP		1.13±0.07 ^{bB}	0.80±0.03 ^{aAB}	1.09±0.17 ^{bB}
	EAC	0.72±0.04 ^a	1.01±0.05 ^{bAB}	0.79±0.09 ^{aAB}	0.93±0.13 ^{bA}
	EGL		0.93±0.02 ^{cA}	0.75±0.01 ^{bAB}	0.93±0.00 ^{cA}
	EBR		1.06±0.15 ^{bB}	0.83±0.10 ^{aB}	0.82±0.01 ^{aA}
	EST		1.05±0.02 ^{bAB}	0.72±0.01 ^{aA}	0.90±0.02 ^{bA}
<i>Caracius gibelio</i>	CFA		2.37±0.08 ^{dC}	1.98±0.03 ^{bB}	2.17±0.07 ^{cC}
	CLP		0.76±0.01 ^{aA}	0.76±0.04 ^{aA}	0.86±0.04 ^{bA}
	CAC	0.77±0.02 ^a	0.81±0.10 ^{aAB}	0.79±0.03 ^{aA}	1.00±0.04 ^{bB}
	CGL		0.88±0.05 ^{bB}	0.77±0.04 ^{aA}	0.83±0.02 ^{bA}
	CBR		0.83±0.02 ^{bAB}	0.79±0.02 ^{abA}	0.79±0.04 ^{abA}
	CST		0.80±0.02 ^{aAB}	0.76±0.01 ^{aA}	0.79±0.08 ^{aA}
Atık	AFA		1.10±0.01 ^{aC}	1.03±0.03 ^{aD}	1.85±0.45 ^{bB}
	ALP		1.11±0.01 ^{dC}	0.96±0.03 ^{bC}	1.05±0.03 ^{cA}
	AAC	0.81±0.02 ^a	1.11±0.01 ^{cC}	0.98±0.00 ^{bCD}	1.07±0.06 ^{cA}
	AGL		1.03±0.04 ^{aB}	0.89±0.07 ^{aB}	1.04±0.32 ^{aA}
	ABR		1.08±0.05 ^{bC}	0.86±0.04 ^{aB}	1.05±0.05 ^{bA}
	AST		0.85±0.03 ^{aA}	0.80±0.01 ^{aA}	1.01±0.05 ^{bA}

EFA: *Equulites klunzingeri* Formik Asit; EPL: *Equulites klunzingeri Lb. plantarum*; EAC: *Equulites klunzingeri Pd. acidilactici*; EGL: *Equulites klunzingeri Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri Streptococcus* spp
CFA: *Caracius gibelio* Formik Asit; CPL: *Caracius gibelio Lb. plantarum*; CAC: *Caracius gibelio Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius gibelio Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius gibelio Lb. brevis* CST: *Caracius gibelio Streptococcus* spp

AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent.gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus* spp

Aynı satırda yer alan farklı harfler (a-d) depolama süresince gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (A-D) aynı ham materyalden yapılmış silaj grupları arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Araştırmada ham *Equulites klunzingeri*, *Caracius gibelio* ve levrek işleme atığı örneklerinde sırasıyla 0.72, 0.77 ve 0.81 mg MA/kg olarak belirlenen TBA değerinin silaj oluşumu ile birlikte genel olarak asit (EFA, CFA) ve fermente gruplarda (ELP, EAC, EGL, EBR, EST, CGL, CBR, ALP, AAC, ABR) istatistiksel olarak önemli derecede arttığı gözlenmiştir (p<0.05). CLP, CAC, CST, AFA, AGL ve AST gruplarında ise ham materyale benzer TBA değerleri saptanmıştır (p>0.05). Araştırmada tüm gruplarda TBA değerinde

genel olarak dalgalanmalar gözlenmesine rağmen, bu seviyelerin Schormüller (1969) tarafından belirtilen iyi bir materyal için kabul edilebilirlik limitinin (5 mg MA kg^{-1}) oldukça altında olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, *Equulites klunzingeri* ve *Caracius gibelio* gruplarında asit silajların (EFA ve CFA) TBA değerleri fermente silajların TBA değerlerinden yüksek bulunmuştur. Lipit oksidasyonunun genel olarak pH değerinin azalmasıyla arttığı, düşük pH'ın oksidasyonu teşvik ettiği ileri sürülmektedir. pH 6'nın altına düştüğünde demir bağlarının yıkıldığı ve oksidasyon için demir iyonlarının daha uygun hale geldiği bildirilmektedir (Jacobsen ve ark., 2001). Benzer durum bu araştırma içinde *Equulites klunzingeri*, *Caracius gibelio* gruplarında gözlenmiş atık grubunda ise ikinci ve üçüncü haftalarda belirginleşmiştir. Genel olarak tüm gruplarda görülen TBA değerlerindeki dalgalanmaların ise MA gibi bileşenlerin balık kasındaki nükleotidler, nükleik asitler, protein ve diğer aldehitler gibi bileşenler ile interaksiyona girmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Diğer yandan, silajlara eklenen BHT (250 mg/kg) ilavesinin tüm silaj gruplarında oksidasyonun ilerlemesini önlemede etkili olduğu görülmüştür.

4.6.3. Balık Silajında Biyojen Amin ve TMA Üretimi

Tablo 11-13 sırasıyla *Equulites klunzingeri*, *Caracius gibelio* ve işleme atığı silajlarındaki biyojen amin ve TMA üretimini göstermektedir. *Equulites klunzingeri* histamin ve feniletilamin dışında test edilen bütün biyojen aminlere sahip olmuştur. Dopamin (6.57 mg/100 g) ve agmatin (3.24 mg/100 g) balıkta en yüksek düzeyde bulunan biyojen aminler olmuştur. Putresin, kadaverin, spermidin, spermin, serotonin ve tiramin gibi diğer biyojenik aminlerin düzeyi 2 mg/100 g 'ın altında kalmıştır. *Caracius gibelio*'da histamin tespit edilemez iken tiramin en yüksek düzeyde belirlenen biyojen amin (6.07 mg/100 g) olmuştur. *C. gibelio*'nun dopamin ve agmatin içeriği sırasıyla 3.75 ve 3.74 mg/100 g olmuştur. İşleme atığı tiriptamin dışında bütün biyojen aminleri içermiş olup, dopamin, spermidin ve agmatin değerleri sırasıyla 2.15 , 1.93 ve 1.83 mg/100 g olmuştur. TMA tüm gruplarda 10 mg/100 g 'ın altında kalmıştır.

LAB içeren silajlarda biyojenik amin üretimi; spesifik biyojen amin, bakteri türüne ve depolama süresine göre değişkenlik göstermiştir. *E. klunzingeri* ile yapılan silaj ham materyale kıyasla daha yüksek putresin ve kadaverin içermiştir. *E. klunzingeri*'den yapılan silajın depolama sonunda (60. gün) putresin ve kadaverin değerlerinin *Lb. plantarum* silajında sırasıyla 11.3 ve 9.4 mg/100 g , *Streptococcus thermophilus* silajında 18.1 ve 10.2 mg/100 g olduğu bulunmuştur (Özyurt ve ark. 2016). Bu çalışmada ise gruplar arasında putresin ve kadaverin üretimi bakımından önemli farklılıklar bulunmasına karşın ($p < 0.05$),

depolamanın 1. haftasında en yüksek putresin ve kadaverin üretimi sırasıyla *Lb. brevis* (14.56 mg/100g, EBR) ve *Pd. acidilactici* (41.37 mg/100g, EAC) tarafından gerçekleşmiştir. Formik asit ile yapılan *E. klunzingeri* silajı (EFA) en düşük putresin ve kadaverin içeriğine sahip grup olmuştur. Depolamanın 2. ve 3. haftasında ise en yüksek kadaverin değerleri *Pd. acidilactici* silajında (EAC) gözlenirken (sırasıyla 35.00 ve 32.22 mg/100g), en düşük putresin değeri yine bu bakteri ile yapılan silajda gözlenmiştir. Spermidin ve triptamin değerleri depolama süresince sırasıyla 2 ve 1 mg/100 g'ın altında kalmıştır. En yüksek feniletilamin ve spermin değeri sırasıyla depolamanın 2. haftasında *Ent. gallinarum* (8.91 mg/100 g, EGL) ve 3. haftada *Streptococcus* spp. (7.09 mg/100 g, EST) silajında gözlenmiştir. Tsai ve ark. (2006) fermente balık ürünlerindeki her bir biyojenik aminin ortalama içeriğinin 9 mg/100 g'dan daha düşük olduğunu ancak histamin düzeyinin 39.4 mg/100 g'a çıkabildiğini belirtmişlerdir. Histamin üretimi bakımından depolama süresince gruplar arasında önemli farklılıklar bulunmuştur. Depolamanın 1. haftasında en yüksek histamin üretimi *Ent. gallinarum* (6.99 mg/100g, EGL) silajında görülmesine karşın depolamanın 2 ve 3. haftasında *Lb. plantarum* (6.81 mg/100 g, EPL) ve *Streptococcus* spp. (6.43 mg/100 g, EST) silajlarında görülmüştür. *Lb. brevis* (EBR) ve *Streptococcus* spp. silajı (EST) diğer fermente silajlara kıyasla depolamanın ilk haftasında en düşük miktarda histamin içeriğine sahip grupLAR olmuştur. Depolamanın 1. ve 3. haftasında formik asit (EFA) ve *Pd. acidilactici* (EAC) grubunda benzer histamin üretimi gözlenmiştir. Serotonin depolama süresince en düşük formik asit silajında (EFA) üretmesine karşın, depolamanın 1. haftasında *Pd. acidilactici* (EAC) ve *Lb. brevis* (EBR) silajı en yüksek düzeyde serotonin üreten grup olmuştur.

Ten Brink ve ark. (1990) insan tüketimi için tiramin düzeyinin 10–80 mg/100 g arasında olduğunu belirtmiştir. Paulsen ve ark. (2012) fermente sos, balık ve balık ürünlerinde maksimum tolere edilebilir tiramin limitini ise sırasıyla 200 ve 95 mg/100 g olarak belirtmiştir. Tiramin genellikle en düşük formik asit (EFA) ve *Streptococcus* spp. (EST) silajlarında gözlenmesine karşın, depolama sonunda en yüksek tiramin değerleri sırasıyla *Ent. gallinarum* (56.32 mg/100 g, EGL) ve *Streptococcus* spp., (53.04 mg/100 g, EST) gruplarında gözlenmiştir. *E. klunzingeri*'den yapılan asit silajın (5–10 mg/100 g, EFA) tiramin içeriğinin bu çalışmaya benzer olarak fermente silajlardan (23–48 mg/100 g) daha düşük olduğu bildirilmiştir (Özyurt ve ark., 2016). *E. klunzingeri* silajında depolama süresince TMA üretimi 7.04 ve 44.90 mg/100 g arasında değişkenlik göstermiştir. Depolama sonunda en yüksek TMA üretimi *Ent. gallinarum* (EGL)ve *Lb. brevis* (EBR) silajında gözlenmiştir. Depolamanın ilk iki haftasında formik asit silajı (EFA) diğer silajlara kıyasla daha yüksek düzeyde dopamin içermesine karşın, depolama sonunda en düşük dopamin asit silajında (EFA) gözlenmiştir. Agmatin depolama süresince 1.70 ve 22.03 mg/100 g arasında

değişkenlik göstermiş olup, depolama sonunda *Lb. brevis* silajı (EBR) 4.90 mg/100 g değeri ile en düşük agmatin içeren grup olmuştur.

C. gibelio silajı, *E. klunzingeri* silajına kıyasla genellikle daha düşük düzeyde biyojen amin içermiştir. *C. gibelio* silajında dopamin, agmatin ve tiramin başlıca üretilen biyojenik aminler olmuştur. *C. gibelio* silajındaki biyojen amin üretimi benzer olarak biyojen amin türüne, bakteri türüne ve depolama süresine bağlı olarak değişkenlik göstermiştir. Putresin ve kadaverin depolama süresince düşük düzeylerde kalmış olup, en yüksek putresin ve kadaverin üretimi depolamanın 1. haftasında *Streptococcus* spp. (CST) silajında gözlenmiştir (sırasıyla 3.26 ve 3.38 mg/100 g). Benzer olarak en yüksek spermidin (3.40 mg/100 g) ve spermin (5.63 mg/100 g) değeri depolamanın 1. haftasında *Streptococcus* spp. (CST) silajında belirlenmiştir. Triptamin ve 2-feniletülinin depolama süresince sırasıyla 2.3 ve 1.4 mg/100 g'ın altında kalmıştır. *Caracius gibelio* silajında histamin depolama süresince genellikle düşük düzeylerde bulunmuş olup, en yüksek değerler 1. haftada *Streptococcus* spp. silajı (4.98 mg/ 100 g, CST), 2. haftada *Lb. brevis* silajı (3.54 mg/100 g, CBR) ve 3. haftada *Ent. gallinarum* (3.32 mg/100 g, CGL) silajında bulunmuştur. Serotonin depolamanın ilk iki haftasında *Pd. acidilactici* (CAC) tarafından en yüksek seviyede üretilirken (13.80 mg/100g), depolama sonunda *Lb. brevis* silajı (CBR) 5.12 mg/100 g ile en yüksek serotonin içeriğine sahip grup olmuştur.

Fermente gıdalarda bazı laktik asit bakterisi üyelerinin histamin, kadaverin, putresin ve tiramin üretimini engellediği (Hu ve ark., 2007; Zhong-Yi ve ark., 2010), ancak fermentasyonda rol oynayan bazı laktik asit bakterisi üyelerinin tiramin üretebildiği bildirilmiştir (Fernandez ve Zuniga, 2006). *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus* ve *Enterococcus* cinslerinin tiramin üretimine yol açan tirozin dekarboksilaz aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Brink ve ark., 1990; Lucas ve Lonvaud-Funel, 2002; Coton ve Coton, 2005; Landete ve ark., 2007; Bunkova ve ark., 2009). *Caracius gibelio* asit silajda (CFA) tiramin üretimi diğer gruplara kıyasla daha düşük olmuştur. LAB üyeleri önemli düzeyde tiramin üretmiş olup, en yüksek tiramin üretimi depolamanın 1. ve 3. haftasında *Streptococcus* spp. (CST) tarafından gerçekleşirken (sırasıyla 36.36 ve 17.73 mg/100 g), *Ent. gallinarum* silajı (CGL) depolamanın 2. haftasında en yüksek düzeyde tiramin üreten grup (17.73 mg/100 g) olmuştur. TMA depolamanın ilk ve son haftasında en yüksek *Streptococcus* spp. (CST) ve *Lb. plantarum* (CPL) silajında gözlenirken, depolama sonuna doğru, *Lb. brevis* (CBR) ve *Ent. gallinarum* (CGL) silajları diğer silajlara kıyasla daha düşük TMA içeriğine (<15 mg/100 g) sahip grup olmuştur. *Lb. brevis* silajı (CBR) diğer bütün gruplara kıyasla depolama süresince en yüksek düzeyde dopamin ve agmatin içeriğine sahip

grup iken, *Streptococcus* spp. (CST) ve *Pd. acidilactici* (CAC) tarafından agmatin üretimi genelde en düşük düzeylerde olmuştur.

Atık silajında üretilen başlıca biyojenik aminler tiramin, dopamin ve agmatin olmuştur. En yüksek putresin üretimi depolamanın ilk haftasında *Lb. plantarum* silajında (10.02 mg/100 g, ALP) gözlenmiş olup, genellikle diğer gruplarda depolama süresince 7 mg/100 g'ın altında kalmıştır. Kadaverin depolama süresince tüm gruplarda 1.65 mg/100 g'dan daha düşük düzeylerde kalmış olup, en yüksek değerler *Streptococcus* spp. (AST) en düşük ise formik asit silajında (AFA) gözlenmiştir. Spermidin, triptamin ve spermin en yüksek, *Lb. Plantarum* (ALP), *Pd. acidilactici* (AAC) ve *Ent. gallinarum* (AGL) silajlarında depolamanın ilk haftasında gözlenmiş olup (sırasıyla 2.3, 1.9 ve 5 mg/100g), depolama sonunda tüm gruplarda 1 mg/100 g'ın altında kalmıştır. Histamin depolama süresince en düşük düzeyde üretilen aminlerden birisi olup, depolamanın 2. haftasında *Lb. brevis* silajı (ABR) 5.42 mg/100 g ile en yüksek düzeyde histamin içeriğine sahip grup olmuştur. Depolama sonunda *Streptococcus* spp. dışında (0.35 mg/100 g, AST) diğer hiçbir grupta histamin tespit edilememiştir. Tiramin depolamanın ilk haftasında 41.62 mg/100 g değeri ile *Lb. plantarum* (APL) silajında en yüksek değere ulaşırken, depolamanın 2. haftasından sonra en düşük tiramin değerleri *Ent. gallinarum* (AGL), *Lb. brevis* (ABR) ve asit silajında (AFA) gözlenmiştir. Depolama sonunda asit silaj (AFA) 0.17 mg/100 g tiramin değerine sahip iken, fermente silajlarda tiramin 0.60 ile 12.47 mg/100 g arasında değişkenlik göstermiştir. Atık silajında (AFA) TMA depolama süresince 28 mg/100 g'ın altında kalmıştır. *Lb. plantarum* (APL) silajı depolama başlangıcında diğer LAB üyelerine kıyasla daha yüksek TMA üreten grup olmuştur. *Lb. brevis* silajı (ABR) asit silajına (AFA) göre daha düşük oranda TMA üretmiştir ($p<0.05$). Atık silajında depolama süresince dopamin ve agmatin değerleri sırasıyla 19 ve 21 mg/100 g'ın altında olup, asit ve diğer fermente silajlara kıyasla depolama sonunda en düşük TMA düzeyi *Pd. acidilactici* (AAC) tarafından gözlenmiştir.

Tablo 11. Depolama süresince *Equulites* grubu asit ve fermente silajların biyojen amin üretimindeki değişimleri

Depolama süresi (hafta)	PUT	KAD	SPD	TRP	FEN	SPN	HİS	SER	TİR	TMA	DOP	AGM	Gruplar
0	1.11±0.03	1.99±0.11	1.04±0.04	0.08±0.01	0.00±0.00	1.07±0.02	0.00±0.00	1.00±0.04	0.98±0.03	9.65±0.59	6.57±0.21	3.24±0.03	<i>E.</i> <i>klunzinger</i>
1	6.12±1.13 ^e	11.77±1.52 ^e	1.10±0.23 ^c	0.16±0.16 ^c	1.20±0.23 ^e	2.36±1.02 ^b	4.17±0.21 ^b	15.92±1.31 ^b	18.98±1.34 ^c	17.50±1.39 ^c	71.65±2.35 ^a	12.81±0.78 ^a	<i>i</i> EFA
	11.26±0.75 ^b	29.31±2.74 ^c	0.91±0.09 ^{cd}	0.77±0.08 ^a	5.10±0.46 ^d	2.12±0.19 ^b	1.30±0.10 ^c	17.86±0.49 ^b	15.91±0.22 ^c	7.04±0.60 ^d	3.42±0.32 ^d	1.70±0.12 ^d	EST
	13.15±1.01 ^a	24.00±1.82 ^d	1.98±1.24 ^a	0.52±0.05 ^b	6.96±0.15 ^c	4.33±0.05 ^a	4.30±0.26 ^b	17.75±1.74 ^b	25.31±2.12 ^b	18.80±1.82 ^{bc}	26.27±2.51 ^b	4.57±0.21 ^c	EPL
	8.08±0.42 ^d	33.70±1.43 ^b	0.87±0.01 ^d	0.13±0.07 ^c	8.91±0.67 ^a	4.19±0.38 ^a	6.99±0.30 ^a	16.68±0.23 ^b	27.25±0.74 ^b	20.45±0.94 ^b	27.51±1.41 ^b	8.84±0.14 ^b	EGL
	14.56±0.86 ^a	28.02±1.72 ^c	1.32±0.04 ^b	0.15±0.03 ^c	6.57±0.66 ^c	5.07±0.30 ^a	1.62±0.07 ^c	24.48±0.61 ^a	24.33±1.61 ^b	19.92±1.65 ^{bc}	25.04±1.41 ^b	8.90±0.82 ^b	EBR
	9.75±0.43 ^c	41.37±1.54 ^a	0.83±0.04 ^d	0.91±0.06 ^c	8.01±0.55 ^b	2.66±0.24 ^b	4.43±0.33 ^b	26.13±1.19 ^a	44.66±3.52 ^a	33.15±1.65 ^a	8.06±0.24 ^c	4.00±0.03 ^c	EAC
2	6.08±0.14 ^d	15.55±0.58 ^c	0.82±0.07 ^b	0.07±0.00 ^d	0.68±0.02 ^e	1.08±0.07 ^d	1.00±0.11 ^d	10.07±0.76 ^d	9.00±0.58 ^e	24.08±2.05 ^c	16.21±0.79 ^a	22.03±0.58 ^a	EFA
	11.53±0.93 ^{ab}	17.80±1.33 ^c	1.44±0.14 ^a	0.83±0.04 ^a	5.33±0.49 ^a	7.09±0.79 ^a	0.00±0.00 ^e	17.69±1.14 ^b	24.90±0.31 ^d	20.01±0.45 ^d	11.54±0.49 ^b	7.55±0.36 ^{cd}	EST
	12.05±0.14 ^a	26.42±1.57 ^b	0.68±0.06 ^c	0.19±0.02 ^c	3.34±0.21 ^c	3.96±0.10 ^b	6.81±0.05 ^a	14.33±1.35 ^c	47.88±3.48 ^a	23.57±1.82 ^c	2.20±0.14 ^e	3.08±0.28 ^e	EPL
	8.83±0.31 ^c	34.57±0.31 ^a	0.53±0.02 ^d	0.23±0.02 ^c	4.63±0.43 ^b	2.90±0.18 ^c	3.59±0.04 ^b	23.55±1.41 ^a	42.03±3.22 ^b	34.99±3.40 ^a	7.99±0.78 ^c	8.40±0.39 ^c	EGL
	10.94±0.30 ^b	25.52±1.80 ^b	0.49±0.03 ^d	0.22±0.02 ^c	2.22±0.09 ^d	2.94±0.18 ^c	3.40±0.24 ^b	17.74±1.17 ^b	36.80±2.63 ^c	28.26±1.86 ^b	4.25±0.22 ^d	9.64±0.83 ^b	EBR
	5.40±0.48 ^d	35.00±2.95 ^a	0.36±0.01 ^e	0.63±0.01 ^b	3.59±0.32 ^c	0.95±0.03 ^d	2.15±0.06 ^c	19.33±0.40 ^b	39.54±0.78 ^{bc}	23.97±0.85 ^c	4.74±0.38 ^d	6.99±0.47 ^d	EAC
3	4.15±0.32 ^f	8.91±0.84 ^e	0.71±0.03 ^{bc}	0.05±0.04 ^c	0.32±0.02 ^e	0.81±0.06 ^e	0.77±0.72 ^d	1.33±0.07 ^c	2.16±0.11 ^d	26.25±1.21 ^{de}	6.08±0.29 ^d	9.99±0.91 ^b	EFA
	11.20±0.34 ^a	27.40±0.04 ^c	1.84±0.05 ^a	0.51±0.05 ^a	4.68±0.04 ^a	3.40±0.13 ^a	6.43±0.34 ^a	11.28±0.86 ^a	53.04±1.74 ^a	28.27±2.84 ^{cd}	15.20±0.11 ^b	6.42±0.20 ^c	EST
	8.86±0.59 ^b	17.22±0.34 ^d	1.20±0.07 ^b	0.25±0.04 ^b	2.14±0.12 ^c	1.48±0.08 ^b	3.56±0.20 ^c	7.40±0.42 ^b	45.66±4.40 ^b	31.73±0.84 ^{bc}	15.56±0.71 ^b	11.84±1.18 ^a	EPL
	5.97±0.42 ^d	28.20±2.21 ^b	1.01±0.08 ^{bc}	0.23±0.16 ^b	3.63±0.22 ^b	1.32±0.12 ^c	5.52±0.44 ^b	11.64±0.53 ^a	56.32±3.42 ^a	44.90±3.58 ^a	20.89±1.66 ^a	10.71±0.91 ^{ab}	EGL
	8.16±0.19 ^c	16.86±1.29 ^d	0.88±0.77 ^{bc}	0.17±0.02 ^{bc}	1.52±0.12 ^d	1.17±0.06 ^d	3.55±0.25 ^c	7.09±0.53 ^b	27.62±1.60 ^c	23.93±1.77 ^e	9.24±0.20 ^c	4.90±0.22 ^d	EBR
	4.91±0.31 ^e	32.22±1.68 ^a	0.43±0.01 ^c	0.50±0.04 ^a	3.46±0.14 ^b	0.39±0.01 ^f	1.22±0.03 ^d	12.28±0.88 ^a	43.35±3.72 ^b	34.51±0.52 ^b	19.34±1.22 ^a	6.46±0.34 ^c	EAC

PUT: Putrescin, KAD: Kadaverin, SPD: Spermidin, TRP: Triptamin, FEN: Feniletilamin, SPN: Spermin, HİS: Histamin, SER: Serotonin, TYR: Tiramin, TMA: Trimetilamin, DA: Dopamin, AGM: Agmatin.

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-f) silaj yapımına bağlı gözlenen istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$).

Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Tablo 12. Depolama süresince *Caracius* grubu asit ve fermente silajların biyojen amin üretimindeki değişimleri

Depolama süresi (hafta)	PUT	KAD	SPD	TRP	FEN	SER	TİR	TMA	DOP	AGM	Gruplar
0	1.99±0.09	0.61±0.04	1.45±0.11	0.42±0.05	0.70±0.05	0.48±0.03	6.07±0.43	5.52±0.26	3.75±0.24	3.74±0.30	C. <i>gibelio</i>
1	1.57±0.09 ^c	1.21±0.07 ^b	1.82±0.15 ^b	0.10±0.01 ^f	0.08±0.00 ^e	13.11±0.19 ^c	11.90±0.32 ^d	10.48±0.43 ^{cd}	19.42±0.23 ^c	16.15±0.82 ^b	CFA
	3.26±0.02 ^a	3.38±0.15 ^a	3.40±0.41 ^a	2.26±0.15 ^a	1.31±0.04 ^f	13.09±0.44 ^a	36.36±3.26 ^a	23.40±2.04 ^a	12.59±1.13 ^d	3.39±0.19 ^f	CST
	1.18±0.10 ^c	1.84±1.01 ^b	0.93±0.01 ^d	0.46±0.04 ^e	0.12±0.01 ^c	3.07±0.08 ^d	12.61±0.67 ^d	14.35±2.18 ^b	25.85±1.63 ^a	15.00±0.31 ^c	CPL
	1.23±0.61 ^c	1.60±0.10 ^b	1.48±0.07 ^{bc}	1.03±0.05 ^c	0.26±0.01 ^t	3.40±0.13 ^d	13.98±0.25 ^{cd}	12.84±1.50 ^{bc}	23.12±1.32 ^b	9.14±0.56 ^d	CGL
	1.11±0.08 ^c	1.11±0.10 ^b	1.20±0.26 ^{cd}	0.64±0.03 ^d	0.02±0.00	7.05±0.15 ^b	17.63±0.67 ^b	3.31±0.18 ^e	26.39±1.52 ^a	20.55±0.45 ^a	CBR
2.10±0.12 ^b	1.68±0.11 ^b	1.82±0.02 ^b	1.17±0.03 ^b	0.20±0.02 ^e	13.80±0.40 ^a	15.72±0.97 ^{bc}	9.81±0.65 ^d	19.73±1.01 ^c	5.71±0.25 ^e	CAC	
2	1.82±0.13 ^{ab}	1.23±0.06 ^c	2.13±0.10 ^a	0.13±0.01 ^f	0.05±0.01 ^c	3.92±0.19 ^e	4.14±0.09 ^f	20.57±1.07 ^c	17.75±0.74 ^c	17.61±0.27 ^c	CFA
	1.96±0.08 ^a	2.58±0.14 ^a	1.36±0.10 ^c	1.25±0.08 ^c	0.21±0.02 ^e	6.45±0.25 ^d	20.41±0.78 ^c	16.22±0.89 ^d	9.90±0.32 ^d	3.89±0.27 ^d	CST
	1.70±0.10 ^b	2.30±0.25 ^{ab}	1.69±0.04 ^b	1.44±0.10 ^b	0.00±0.00 ^c	10.62±0.68 ^b	17.12±0.47 ^d	29.39±1.90 ^a	21.94±1.03 ^b	18.43±0.27 ^c	CPL
	1.83±0.09 ^{ab}	2.23±0.18 ^b	2.17±0.18 ^a	1.76±0.03 ^a	0.09±0.01 ^t	4.64±0.27 ^e	24.42±0.65 ^a	13.90±1.43 ^e	23.55±0.89 ^b	23.18±0.97 ^b	CGL
	1.01±0.20 ^c	1.06±0.29 ^c	1.27±0.03 ^c	1.06±0.06 ^d	0.00±0.00 ^c	7.91±0.46 ^c	22.49±1.07 ^b	13.47±0.51 ^e	26.24±2.17 ^a	36.59±1.21 ^a	CBR
0.99±0.09 ^c	0.70±0.02 ^d	0.72±0.03 ^d	0.59±0.06 ^e	0.00±0.00 ^c	13.81±0.95 ^a	13.51±1.23 ^e	23.99±0.58 ^b	14.28±0.20 ^d	2.89±0.15 ^d	CAC	
3	1.36±0.02 ^{ab}	0.89±0.09 ^c	1.20±0.07 ^b	0.20±0.03 ^c	0.01±0.00 ^c	2.46±0.19 ^d	2.76±0.25 ^f	18.99±1.12 ^b	13.47±0.99 ^d	9.99±0.41 ^a	CFA
	1.58±0.06 ^a	1.44±0.08 ^b	1.70±0.05 ^a	1.08±0.07 ^a	0.00±0.00 ^c	11.66±0.11 ^e	17.73±1.09 ^a	22.46±0.90 ^a	6.70±0.12 ^e	5.45±0.29 ^c	CST
	1.25±0.01 ^{bc}	1.75±0.11 ^a	1.18±0.04 ^b	0.83±0.07 ^b	0.00±0.00 ^c	2.02±0.03 ^{de}	9.24±0.65 ^e	23.66±0.66 ^a	15.64±1.24 ^c	4.28±0.36 ^d	CPL
	1.13±0.35 ^{bc}	1.79±0.07 ^a	0.94±0.08 ^c	0.86±0.04 ^b	0.00±0.00 ^c	3.24±0.40 ^c	10.68±0.65 ^d	14.91±1.01 ^c	17.49±0.59 ^b	7.50±0.17 ^b	CGL
	1.01±0.09 ^c	1.47±0.13 ^b	1.13±0.11 ^b	0.81±0.02 ^b	0.18±0.01 ^t	5.12±0.14 ^a	12.75±0.60 ^c	15.03±1.04 ^c	23.43±0.60 ^a	10.29±0.90 ^a	CBR
1.41±0.08 ^{ab}	1.52±0.01 ^b	1.21±0.05 ^b	0.81±0.05 ^b	0.33±0.03 ^e	4.28±0.47 ^b	15.68±0.52 ^b	22.60±0.58 ^a	12.82±1.00 ^d	2.35±0.24 ^e	CAC	

PUT: Putrescin, KAD: Kadaverin, SPD: Spermidin, TRP: Triptamin, FEN: TMA: Trimetilamin, DA: Dopamin, AGM: Agmatin.

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-f) silaj yapımına bağlı gözlenen Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Tablo 13. Depolama süresince Atık grubu asit ve

Feniletilamin, SPN: Spermin, HİS: Histamin, SER: Serotonin, TYR: Tiramin,

istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

fermente silajların biyojen amin üretimindeki değişimleri



PUT: Putrescin, KAD: Kadaverin, SPD: Spermidin, TRP:Triptamin, FEN: Feniletilamin, SPN: Spermin, HİS: Histamin, SER: Serotonin, TYR: Tiramin, TMA: Trimetilamin , DA: Dopamin, AGM: Agmatin.

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-f) silaj yapımına bağlı gözlenen istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$).

Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

4.6.4. Balık Silajında Organik Asit Üretimi

Proje kapsamında ham materyal ve özellikle balık silajının olgunlaşması sonrasında organik asit analizi yer almamasına karşın, verilerin karşılaştırılması açısından projeye bu analizin dahil edilmesi uygun görülmüştür.

Anaerobik koşullar altında fermantasyon süresince bir çok anaerobik ve fakültatif anaerobik mikroorganizmalar laktik, süksinik, asetik, sitrik, butirik veya propiyonik asit üretebilmektedir (Gottschalk, 1985). Balık silajında formik, asetik, süksinik ve propiyonik asit düzeyleri Tablo 14-16'da verilmiştir. Ham *E. klunzingeri*, *C. gibelio* ve işleme atığında propiyonik asit tespit edilemez iken laktik asit ve asetik asit en yüksek düzeyde bulunan organik asitler olmuştur. Başlangıç laktik asit düzeyi 109.88 mg/100g (*C. gibelio*) ile 138.68 mg/100g (işleme atığı) arasında değişkenlik göstermiştir. Asetik asit en yüksek 173.87 mg/100g ile *E. klunzingeri*' de bunu takiben *C. gibelio*' da (104.30 mg/100g) gözlenmiştir. Balık ve balık işleme atığında başlangıç süksinik asit düzeyi 15 mg/100g' ın altında olmuştur.

Mikrobiyal fermantasyonda en yaygın son ürünlerden biri olan laktik asit başlıca laktik asit bakterilerince üretilir (Gottschalk 1985; Okino ve ark., 2005). Karides atığı fermentasyonunda yüksek glukoz ve starter kültür konsantrasyonunun üretilen laktik asit miktarını arttırdığı bulunmuştur (Shirai ve ark., 2001). *E. klunzingeri* asit silajı başlıca propiyonik asit (1851.06 mg/100 g, EFA) ve formik asit (1051.13 mg/100 g, EFA) içerirken, *C. gibelio* asit silajı (CFA) bu asitlerin yanında yüksek düzeyde laktik asit (1098.22 mg/100 g) içermiştir. Atık asit silajı diğer asit silajlara kıyasla daha yüksek düzeyde laktik, propiyonik, formik ve asetik asit içermiştir.

Tablo 14. *E. klunzingeri* silajında organik asit üretimi (mg/100g).

	Formik asit	Laktik asit	Asetik asit	Süksinik asit	Propiyonik asit
E	0.00±0.00	113.41±5.14	173.87±11.65	14.52±0.24	0.00±0.00
EFA	1051.13±5.16	810.23±20.90	584.49±0.88	43.62±0.65	1851.06±14.87
EPL	0.00±0.00	1637.14±1.86 ^a	674.19±26.09 ^a	13.78±0.99 ^a	1372.62±8.24 ^b
EAC	0.00±0.00	1913.39±30.46 ^d	743.23±10.60 ^b	13.33±0.54 ^a	0.00±0.00
EGL	3.25±0.16 ^b	1909.39±26.47 ^d	735.88±7.20 ^b	13.29±0.59 ^a	0.00±0.00
EBR	2.90±0.11 ^a	1751.93±10.97 ^b	752.11±9.33 ^b	12.94±0.74 ^a	1894.01±17.29 ^c
EST	2.76±0.02 ^a	1848.21±7.05 ^c	697.11±4.23 ^a	12.92±0.66 ^a	1133.52±19.00 ^a

E: *Equulites klunzingeri*; EFA: *Equulites klunzingeri* Formik Asit; EPL: *Equulites klunzingeri* *Lb. plantarum*; EAC: *Equulites klunzingeri* *Pd. acidilactici*; EGL: *Equulites klunzingeri* *Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri* *Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri* *Streptococcus* spp

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-d) fermente silaj grupları arasında gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Tablo 15. *C. gibelio* silajında organik asit üretimi (mg/100g).

	Formik asit	Laktik asit	Asetik asit	Süksinik asit	Propiyonik asit
C	0.00±0.00	109.88±4.14	104.30±9.14	10.09±0.56	0.00±0.00
CFA	1227.38±17.38	1098.22±13.67	528.76±26.19	152.87±0.21	1762.34±17.45
CPL	0.00±0.00	1935.43±15.98 ^e	621.29±2.79 ^d	19.53±1.02 ^d	4218.80±5.96 ^d
CAC	0.00±0.00	1596.90±6.47 ^b	471.32±8.75 ^{ab}	16.82±0.83 ^{bc}	3325.93±8.26 ^c
CGL	0.00±0.00	1876.38±13.41 ^d	577.73±3.61 ^c	17.99±0.50 ^c	2916.82±31.16 ^b
CBR	0.00±0.00	1730.57±19.91 ^c	447.15±26.24 ^a	15.56±0.67 ^b	2947.25±31.95 ^b
CST	0.00±0.00	1442.15±8.67 ^a	476.75±17.27 ^b	12.95±1.02 ^a	2375.95±11.06 ^a

C: *Caracius gibelio*; CFA: *Caracius gibelio* Formik Asit; CPL: *Caracius gibelio* *Lb. plantarum*; CAC: *Caracius gibelio* *Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius gibelio* *Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius gibelio* *Lb. brevis* CST: *Caracius gibelio* *Streptococcus* spp Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-e) fermente silaj grupları arasında gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Tablo 16. İşleme atığı silajında organik asit üretimi (mg/100g).

	Formik asit	Laktik asit	Asetik asit	Süksinik asit	Propiyonik asit
A	0.00±0.00	138.68±2.83	87.23±3.54	11.56±1.03	0.00±0.00
AFA	1253.89±22.06	2588.74±23.05	1022.62±55.55	35.99±1.66	2149.37±17.89
APL	0.00±0.00	1581.40±21.68 ^a	674.20±27.19 ^{ab}	23.42±1.42 ^b	2191.49±34.61 ^d
AAC	3.29±0.19 ^b	1526.80±38.71 ^a	646.94±17.11 ^a	21.22±0.36 ^a	960.73±22.48 ^a
AGL	2.62±0.15 ^a	1587.69±11.97 ^a	703.10±18.02 ^b	20.79±1.37 ^a	2080.19±47.39 ^c
ABR	2.30±0.16 ^a	1719.45±9.96 ^b	655.31±3.75 ^a	22.38±0.25 ^{ab}	2505.18±17.95 ^e
AST	4.03±0.35 ^c	1885.46±83.41 ^c	770.64±15.38 ^c	26.52±0.87 ^c	1842.22±25.63 ^b

A: Levrek işleme atığı; AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent. gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus* spp

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-d) fermente silaj grupları arasında gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Fermente *C. gibelio* silajının hiçbir grubunda formik asit tespit edilemez iken, *E. klunzingeri* ve işleme atığında formik asit üretimi genellikle 3.5 mg/100 g'ın altında kalmıştır. *Lb. plantarum* grubu hiçbir silaj formik asit içermemiştir. Fermente silajlarda laktik ve propiyonik asit başlıca üretilen organik asitler olmuştur. *E. klunzingeri* fermente silajında en yüksek laktik asit üretimi *Pd. acidilactici* (1913 mg/100 g, EAC) ve *Ent. gallinarum* (1909 mg/100g, EGL) tarafından gerçekleşirken bu bakteriler propiyonik asit üretmemiştir. İşleme atığı fermente silajında en yüksek laktik asit üretimi *Streptococcus* spp. tarafından gerçekleşirken (1885 mg/ 100 g, AST), *Lb. Plantarum* (APL), *Pd. acidilactici* (AAC) ve *Ent. gallinarum* (AGL) tarafından laktik asit üretimi istatistiki olarak benzer olmuştur. Fermente *C. gibelio* silajında ise laktik asit birikimi bakımından bakteriler arasında önemli farklılıklar gözlenmiş olup, en yüksek laktik asit birikimi sırasıyla *Lb. plantarum* (1935 mg/ 100g, CPL) ve *Ent. gallinarum* (1876 mg/100g, CGL) gruplarında tespit edilmiştir. Shirai ve ark. (2001) %10 oranında glukoz ve %5 bireysel laktik asit bakterisi içeren 30°C' de 48 saat fermente olmuş karides atığında *Lactobacillus* sp. B2, *Lactobacillus casei* A3 ve *Lactobacillus pentosus* tarafından üretilen laktik asit düzeyinin sırasıyla 8300, 6300 ve 8000 mg/100 g olduğu ve asetik asidin sadece *Lactobacillus pentosus* tarafından üretildiğini (600 mg/100g) bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise

asetik asit tüm fermente silaj gruplarında üretilmiştir. Asetik asit üretimi en düşük fermente *C. gibelio* *Lb. brevis* silajında (447.15 mg/ 100g, CBR) gözlenirken, fermente silajlarda en yüksek asetik asit birikimi 770.64 mg/100 g ile işleme atığı *Streptococcus* spp. silajında (AST) gözlenmiştir. Fermente silajlarda *Pd. acidilactici* ve *Lb. brevis* tarafından asetik asit üretimi istatistiksel olarak benzer olmuştur. Vazquez ve ark. (2011) kılıç balığı, kedi balığı ve köpek balığı iç organı atığı ile yapılan fermente silajları arasında en yüksek laktik asit ve en düşük asetik asit konsantrasyonunun kılıç balığı atığında gözlendiğini bildirmiştir. Yine bu çalışmada en yüksek toplam organik asit üretiminin (laktik ve asetik asit) kedi balığı atığından elde edilen silajda gerçekleştiği bildirilmiştir.

Silaj fermantasyonunda starter olarak kullanılan *Lactobacillus buchneri* nin laktik asidi anaerobik olarak yıkımladığı ve herhangi bir süksinik asit ve formik asit üretmediği gözlenmiştir (Driehuis ve ark., 1999). Fermente silajlarda süksinik asit formik asitten sonra en düşük düzeyde üretilen organik asit olmuştur. *E. Klunzingeri* fermente silajında tüm laktik asit bakteri üyeleri benzer düzeyde süksinik asit üretmiştir (13 mg/100 g). *Ent. gallinarum* ve *Pd. acidilactici* *C. Gibelio* (CGL ve CAC) ve işleme atığı (AGL ve AAC) fermente silajında benzer düzeyde süksinik asit üretirken, *Streptococcus spp.* (26.52 mg/100 g, AST) ve *Lb. plantarum* (19.53 mg/100 g, CPL) sırasıyla işleme atığı ve *C. gibelio* fermente silajında en yüksek düzeyde süksinik asit üreten laktik asit bakteri türleri olmuştur. Propiyonik asit *C. gibelio* ve bunu takiben işleme atığı fermente silajında en yüksek düzeyde üretilen organik asit olmuştur. *E. klunzingeri* fermente silajında *Pd. acidilactici* (EAC) ve *Ent. gallinarum* (EGL) propiyonik asit üretmez iken, *C. gibelio* fermente silajında *Lb. plantarum* (CPL) ve *Pd. acidilactici* (CAC) grupları sırasıyla 4218.80 ve 3325.93 mg/100 g propiyonik asit içermiştir. Fermente işleme atığı silajında gruplar arasında propiyonik asit üretimi bakımından önemli farklılıklar gözlenmiş olup, propiyonik asit düzeyi 960.73 mg/ 100 g (*Pd. acidilactici*, AAC) ile 2505.18 mg/100 g (*Lb. brevis*, ABR) arasında değişkenlik göstermiştir.

4.7. Silajların Yağlarının Ayrılması

Hayvansal protein kaynağı olarak değerlendirilebilen balık silajları önemli miktarda doymamış yağ asitleri içermektedir. Projede, bu değerli kaynağın ekstraksiyonu ile silajın depolanma ömrünün artırılması yanında kalitesinin belirlenmesiyle insan tüketimi için uygunluğunun belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, olgunlaşma sonrasında silajların sıcaklığı su banyosunda 50 °C'ye artırılmış ve sonra 20 dk 7000 g de santrifüj edilerek üstte biriken yağ tabakasının alınması sağlanmıştır (Crexi ve ark., 2009). Ayrılan yağların verimi hesaplandığında yağ oranı en yüksek olan atık grubunda bulunan asit ve fermente silajların

yağ geri kazanma verimleri de yüksek bulunmuştur (%90.18 - %91.92). *Caracius gibelio* ile hazırlanan asit ve fermente silajlarda geri kazanılan yağlarda verim %75.86 - %85.54 oranlarında bulunurken *Equulites klunzingeri* ile hazırlanan silajlarda ise bu oranlar % 57.69 - %66.89 oranlarında olmuştur. Rai ve ark (2010) sazan iç organlarından yaptıkları silajlardan geri kazandıkları yağların verimi için de benzer oranlar belirtmişlerdir.

4.7.1. Silajlardan Ekstrakte Edilen Yağların Kaliteleri

4.7.1.1. Yağ Asitleri

Vücuda yararlı maddeler içermesi yönünden balık yağının önemi her geçen yıl giderek artmaktadır. Bunlardan en önemlileri içerdiği doymamış yağ asitlerinden özellikle α -linolenik, EPA ve DHA' dır. İnsan sağlığına bir çok olumlu etkileri vardır bunlar arasında kan basıncını ve kandaki trigliseritleri düşürerek kardiovasküler rahatsızlık riskini azaltması, immün sistemi güçlendirmesi, beyin fonksiyonlarını düzenlemesi, kansere, depresyona ve psikolojik düzensizliklere karşı koruma sağlaması yer almaktadır (Morris ve ark., 1993; Vandongen ve ark., 1993; Caygill ve ark., 1995; de Deckere, 1999; Su ve ark., 2003; Kris-Etherton ve ark., 2003; Yamagishi ve ark., 2008).

Balık işleme fabrikalarından atılan atıklar (iç organlar, kafa, kan, deri, kemikler vb.) düşük ekonomik değere sahiptirler (Turchini ve ark., 2009). Bu atıklardan elde edilen balık yağı ticari olarak elde edilen balık yağına alternatif olabilir ve aynı zamanda bu atıklardan kaynaklanan çevre kirliliğini azaltabilir (Fiori ve ark., 2012). Kimyasal (düşük pH) ve ısı işlem içeren fiziksel metotlar balık yağında bulunan n-3 PUFA' ların oksidasyonuna neden olurken, fermentasyon ve enzim hidrolizi gibi biyoteknolojik metotlar atıkların lipit ve protein içeriğinin korunmasını sağlar (Amit ve ark., 2011).

Bu projede, üç balık türü ve 5 bakteri türü kullanılarak hazırlanan balık silajlarının yağ asitleri Tablo 17, 18 ve 19'de verilmiştir. Araştırmada tüm gruplarda gözlenen temel yağ asitleri miristik asit (C14:0), palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0), palmitoleik asit (C16:1), oleik asit (C18:1n9), vaksenik asit (C18:1n7), linoleik asit (C18:2n6), eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5n3) ve dekoheksaenoik asit (DHA, C22:6n3) olduğu tespit edilmiştir.

Balıkların yağ asit profiline bakıldığında (Tablo 17, 18, ve 19) yağ asitleri miktar olarak farklılık göstermektedir. Bir çok araştırmacı benzer sonuçlar bulmuş olup bu farklılıkların, balığın beslenme alışkanlığından kaynaklandığı belirtilmiştir (De Silva ve ark., 1997; Arts ve ark., 2001). Balıkların yağ asit profili türe, cinsiyete, balığın büyüklüğüne, üreme dönemine,

mevsime ve yaşadıkları bölgeye göre değişim göstermektedir. Hatta aynı tür içerisinde ve vücut bölgelerine göre de yağ asit profilinin değiştiği bilinmektedir.

Toplam doymuş yağ asitleri (SFA), ham eksi balığında (*Equulites klunzingeri*) %35.31, *Caracius gibelio* türünde %23.21 ve levrek işleme atığında %18.74 olarak tespit edilmiştir. MUFA değerleri en yüksek atık levrekte (%43.87), sonra *Caracius gibelio* türünde (%37.05) ve en düşük *Equulites klunzingeri*'de %31.39 olarak tespit edilmiştir. Toplam PUFA miktarı *Equulites klunzingeri*'de %18.92, *Caracius gibelio* türünde %15.42 ve atık levrekte %24.44 olmuştur (Tablo 17,18,19).

Bu araştırmadan elde edilen sonuçlara göre ham balığın yağ asit profili ile fermente edilen balık atıklarının yağ asit profilleri benzerlik göstermektedir. Formik asit ve bakteri türleri kullanılarak hazırlanan silajlarda genel olarak yağ asit miktarı üç tür içinde fazla değişmemiştir. *Equulites klunzingeri* ile hazırlanan silajlarda SFA miktarı %35.70 ile %36.48 arasında değişim göstermiştir. Doymuş yağ asitlerinden miristik asitin en düşük değeri %5.09 ile ham *Equulites klunzingeri*'de bulunurken, en yüksek miristik asit değeri ise %5.57 ile *L. plantarum* ile hazırlanan ELP grubunda gözlenmiştir. Diğer bir doymuş yağ asiti olan palmitik asit bakımından, hazırlanan silajlar ile ham *Equulites klunzingeri* arasında istatistiksel olarak farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.05$). En yüksek stearik asit değeri %6.17 ile *Streptococcus spp* ile hazırlanan EST grubu silajda gözlenmiştir.

Toplam MUFA miktarı silajlarda %30.24 ile %31.68 arasında değişim göstermiştir (Tablo 17). Palmitoleik asit (C16:1) içeriğinin %13.10- 14.10 arasında olduğu gözlenmemiştir. En yüksek oleik asit (C18:1n9) miktarları %10.32 ve %10.22 ile sırasıyla ham *Equulites klunzingeri* ve EGL grubunda gözlenmiş iken ($p<0.05$), diğer gruplarda %8.35-8.86 oranları arasında değerler gözlenmiştir ($p>0.05$). Formik asit ile hazırlanan silaj ile bakteri türleri kullanılarak hazırlanan silajlar arasında vaksenik asit (C18:1n7) açısından istatistiksel olarak farklılık gözlenmiştir ($p<0.05$).

Toplam PUFA miktarı da ham *Equulites klunzingeri*'de %18.92 olarak belirlenmiş, silaj yapımından sonra EFA, EAC, EGL, EBR ve EST gruplarında benzer PUFA değerleri belirlenirken, en düşük değer %17.71 oranıyla EPL grubunda görülmüştür (Tablo 17). EPA açısından tüm gruplar arasında istatistiksel olarak farklılıklar gözlenmemiş olup, hem formik hem de bakteri kullanarak hazırlanan silajlardaki EPA düzeyi, ham balık EPA düzeyi ile benzer kalmıştır ($p>0.05$). DHA bakımından da EGL grubu dışında genel olarak ham balık ve silajlar arasında istatistiksel olarak bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$). En düşük DHA değerinin %9.80 ile eksi *Ent. Gallinarum* ile hazırlanan silajda olduğu görülmüştür. Bu grupta,

formik asit ve bakteri kullanarak hazırlanan silajların DHA içerikleri benzer olup istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 17. Eksi balığının ve silaj yapımı sonrası yağ asit içerikleri.

Yağ asitleri	E	EFA	EPL	EAC	EGL	EBR	EST
C12:0	0.03±0.01 ^e	1.65±0.08 ^c	1.17±0.10 ^d	1.55±0.03 ^c	2.71±0.36 ^a	2.35±0.34 ^b	1.67±0.02 ^c
C14:0	5.09±0.31 ^d	5.25±0.10 ^{cd}	5.57±0.03 ^a	5.54±0.04 ^{ab}	5.18±0.09 ^{cd}	5.27±0.17 ^{bcd}	5.40±0.10 ^{abc}
C16:0	23.96±0.42 ^a	22.33±0.25 ^b	22.77±0.09 ^b	22.78±0.16 ^b	21.67±0.92 ^c	22.24±0.16 ^b	22.74±0.08 ^b
C17:0	0.29±0.03 ^c	0.35±0.03 ^b	0.39±0.02 ^a	0.37±0.03 ^{ab}	0.36±0.02 ^{ab}	0.36±0.01 ^{ab}	0.37±0.01 ^{ab}
C18:0	5.81±0.13 ^b	5.97±0.14 ^{ab}	5.82±0.09 ^b	5.96±0.04 ^{ab}	5.75±0.12 ^b	5.98±0.18 ^{ab}	6.17±0.14 ^a
C20:0	0.14±0.01 ^{ab}	0.16±0.04 ^a	0.12±0.00 ^b	0.12±0.00 ^b	0.13±0.01 ^{ab}	0.13±0.01 ^b	0.12±0.01 ^b
SFA	35.31±0.63^b	35.70±0.27^a	35.84±0.04^a	36.32±0.23^a	35.81±0.76^a	36.33±0.67^a	36.48±0.23^a
C14:1	0.23±0.03 ^d	0.27±0.03 ^c	0.31±0.02 ^{ab}	0.31±0.00 ^a	0.27±0.01 ^{bc}	0.27±0.02 ^{bc}	0.29±0.01 ^{abc}
C16:1	13.12±0.77 ^b	13.42±0.30 ^b	14.10±0.17 ^a	13.57±0.08 ^a	13.10±0.12 ^b	13.24±0.32 ^b	13.62±0.07 ^a
C17:1	0.67±0.07 ^c	0.75±0.02 ^b	0.82±0.01 ^a	0.76±0.00 ^b	0.76±0.01 ^b	0.75±0.02 ^b	0.75±0.01 ^b
C18:1n ₉	10.32±0.29 ^a	8.86±0.10 ^d	8.67±0.18 ^d	8.83±0.11 ^d	10.22±0.09 ^a	9.66±0.14 ^b	8.35±0.05 ^d
C18:1n ₇	4.47±0.24 ^{bc}	4.38±0.54 ^c	5.08±0.10 ^a	5.07±0.10 ^a	4.95±0.36 ^{ab}	5.12±0.13 ^a	5.20±0.16 ^a
C20:1	2.01±0.05 ^a	1.82±0.04 ^b	1.74±0.02 ^{cd}	1.72±0.02 ^{cde}	1.68±0.02 ^e	1.69±0.02 ^{de}	1.77±0.04 ^{bc}
C22:1n ₉	0.56±0.10 ^b	0.74±0.01 ^a	0.75±0.01 ^a	0.71±0.01 ^a	0.70±0.01 ^a	0.72±0.01 ^a	0.76±0.01 ^a
MUFA	31.39±1.23^a	30.24±0.87^b	31.46±0.23^a	30.97±0.07^a	31.68±0.18^a	31.46±0.54^a	30.74±0.09^a
C18:2n ₆	1.60±0.28 ^c	1.40±0.09 ^{cd}	1.38±0.05 ^{cd}	1.60±0.07 ^c	2.18±0.14 ^a	1.95±0.05 ^b	1.25±0.04 ^d
C18:3n ₃	0.88±0.05 ^a	0.37±0.03 ^b	0.32±0.02 ^b	0.34±0.01 ^b	0.33±0.03 ^b	0.29±0.10 ^b	0.35±0.01 ^b
C20:2	0.20±0.09 ^b	0.27±0.01 ^a	0.23±0.01 ^{ab}	0.27±0.01 ^a	0.27±0.02 ^a	0.26±0.01 ^{ab}	0.24±0.01 ^{ab}
C20:4n ₆	0.28±0.03 ^a	0.19±0.01 ^d	0.23±0.01 ^b	0.21±0.01 ^c	0.21±0.01 ^{cd}	0.22±0.01 ^{bc}	0.24±0.00 ^b
C20:5n ₃	4.97±0.52 ^a	5.32±0.04 ^a	5.08±0.07 ^a	5.19±0.04 ^a	5.12±0.02 ^a	5.14±0.10 ^a	5.22±0.12 ^a
C22:2	0.61±0.09 ^a	0.55±0.01 ^{ab}	0.55±0.01 ^{ab}	0.52±0.01 ^b	0.52±0.01 ^b	0.51±0.03 ^b	0.52±0.03 ^b
C22:6n ₃	10.37±0.54 ^a	10.22±0.13 ^a	9.92±0.28 ^{ab}	10.02±0.10 ^a	9.80±0.08 ^b	9.97±0.21 ^{ab}	10.18±0.27 ^a
PUFA	18.92±1.07^a	18.32±0.18^a	17.71±0.33^b	18.16±0.15^a	18.42±0.16^a	18.34±0.17^a	18.01±0.44^a

E: Ham *Equulites klunzingeri*; EFA: *Equulites klunzingeri* Formik Asit; EPL: *Equulites klunzingeri* *Lb. plantarum*; EAC: *Equulites klunzingeri* *Pd. acidilactici*; EGL: *Equulites klunzingeri* *Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri* *Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri* *Streptococcus* spp

Aynı satırda yer alan farklı harfler (a-d) silaj grupları arasında gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Caracius gibelio türü ile hazırlanan silajlarda SFA miktarı, ham balık (%23.21) ile karşılaştırıldığında CPL ve CGL gruplarında benzer görülmesine rağmen, diğer gruplar arasında istatistiksel olarak farklılıklar saptanmıştır (Tablo 18). Silajlarda SFA miktarları %21.87 ile %22.97 arasında değişim göstermiştir. En düşük miristik asit değeri %2.37 ile ham *Caracius* türünde gözlenmiş iken, bu değer diğer gruplarda %2.75 ile 2.99 oranları arasında gözlenmiştir. Palmitik asit bakımından ham balıkta belirlenen % 17.29 değerinin

diğer gruplardan istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Ham materyal ve formik asit ile hazırlanan silaj grubu arasında stearik asit bakımında istatistiksel farklılık gözlenmez iken ($p>0.05$), bu gruplar ile diğer silaj grupları arasında istatistiksel olarak farklılıklar belirlenmiştir ($p<0.05$).

MUFA miktarı ham *Caracius gibelio*'da %37.05 iken silajlarda bu miktar artarak %39.07-39.68 arasında gözlenmiştir. En yüksek palmitoleik asit değerleri %10.81, %10.55 ve %10.30 olarak sırasıyla, CFA, CAC ve CBR gruplarında gözlenmiştir (Tablo 18). Oleik asit bakımından *Caracius Lb. brevis* ile hazırlanan silaj grubunun en düşük değerde olduğu (%19.46) gözlenmiştir. En düşük vaksenik asit değeri %4.67 ile ham *Caracius* grubunda gözlenmiştir. Toplam PUFA miktarı da ham balıkta %15.42 olup, silaj yapımından sonra PUFA miktarının CST grubu dışındaki tüm gruplarda ham materyalin PUFA miktarıyla benzer düzeyde (%14.45-15.53) oldukları saptanmıştır ($p>0.05$). EPA bakımından en yüksek değerler CPL ve CGL gruplarında (sırasıyla, %4.55 ve % 4.44) gözlenirken, en düşük değer ise %2.60 ile ham balıkta gözlenmiştir. *Caracius* türünde hem formik asit hem de bakteri kullanarak hazırlanan silajlarda EPA miktarında yükselmeler gözlenmiştir. Bunun aksine DHA içeriğinin silaj gruplarında ham balığa göre önemli düzeyde düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Tablo 18. *Caracius* türünün ve silaj yapımı sonrası yağ asit içerikleri.

Yağ asitleri	C	CFA	CPL	CAC	CGL	CBR	CST
C12:0	0.07±0.01 ^d	0.74±0.05 ^c	1.02±0.11 ^b	1.04±0.03 ^b	1.46±0.04 ^a	1.43±0.12 ^a	1.34±0.04 ^a
C14:0	2.37±0.13 ^c	2.99±0.10 ^a	2.92±0.18 ^{ab}	2.98±0.06 ^a	2.86±0.03 ^{ab}	2.79±0.11 ^{ab}	2.75±0.06 ^b
C16:0	17.29±0.23 ^a	14.72±0.10 ^b	15.12±0.22 ^b	14.63±0.14 ^c	14.75±0.19 ^b	14.47±0.48 ^c	14.64±0.10 ^c
C17:0	0.52±0.03 ^a	0.54±0.01 ^a	0.53±0.02 ^a	0.54±0.02 ^a	0.54±0.06 ^a	0.55±0.01 ^a	0.55±0.02 ^a
C18:0	2.51±0.23 ^c	2.52±0.14 ^c	2.88±0.29 ^b	2.64±0.13 ^{ab}	2.92±0.12 ^a	2.76±0.07 ^{ab}	2.63±0.02 ^{ab}
C20:0	0.45±0.04 ^a	0.36±0.01 ^b	0.38±0.04 ^{ab}	0.35±0.02 ^b	0.45±0.08 ^a	0.38±0.03 ^{ab}	0.45±0.06 ^a
SFA	23.21±0.19^a	21.87±0.10^d	22.85±0.67^{ab}	22.18±0.17^c	22.97±0.16^a	22.39±0.63^{bc}	22.35±0.11^{bc}
C14:1	0.39±0.05 ^a	0.17±0.02 ^b	0.13±0.03 ^c	0.17±0.01 ^{bc}	0.14±0.01 ^{bc}	0.15±0.01 ^{bc}	0.16±0.01 ^{bc}
C16:1	8.90±0.34 ^d	10.81±0.26 ^a	9.94±0.01 ^c	10.55±0.22 ^a	9.96±0.47 ^c	10.30±0.27 ^{ab}	10.19±0.30 ^{bc}
C17:1	0.68±0.03 ^d	0.96±0.03 ^a	0.82±0.06 ^{bc}	0.88±0.01 ^b	0.80±0.07 ^c	0.83±0.03 ^{bc}	0.81±0.03 ^{bc}
C18:1n ₉	21.13±0.27 ^a	20.46±0.18 ^b	20.64±0.28 ^{ab}	20.12±0.16 ^b	20.29±0.33 ^b	19.46±0.35 ^c	20.32±0.58 ^b
C18:1n ₇	4.67±0.21 ^c	5.66±0.27 ^b	6.16±0.21 ^{ab}	5.96±0.19 ^{ab}	6.63±0.46 ^a	6.67±1.01 ^a	5.94±0.05 ^{ab}
C20:1	1.06±0.04 ^c	1.30±0.06 ^b	1.50±0.19 ^a	1.27±0.09 ^b	1.52±0.12 ^a	1.35±0.07 ^{ab}	1.40±0.04 ^{ab}
C22:1n ₉	0.23±0.03 ^c	0.32±0.01 ^b	0.07±0.01 ^d	0.33±0.01 ^b	0.07±0.01 ^d	0.31±0.03 ^b	0.39±0.04 ^a
MUFA	37.05±0.62^b	39.68±0.15^a	39.27±0.35^a	39.28±0.19^a	39.42±0.39^a	39.07±0.41^a	39.21±0.93^a
C18:2n ₆	5.24±0.26 ^b	4.76±0.03 ^b	5.01±0.38 ^b	5.23±0.55 ^b	5.13±0.63 ^b	6.10±0.77 ^a	4.83±0.16 ^b
C18:3n ₃	1.73±0.15 ^a	1.22±0.04 ^b	1.09±0.05 ^b	1.14±0.03 ^b	1.16±0.03 ^b	1.07±0.15 ^b	1.13±0.06 ^b

C20:2	0.45±0.06 ^a	0.42±0.16 ^a	0.55±0.21 ^a	0.54±0.11 ^a	0.62±0.22 ^a	0.44±0.16 ^a	0.64±0.03 ^a
C20:4n 6	1.02±0.09 ^a	0.88±0.04 ^{bc}	0.89±0.10 ^{bc}	0.83±0.06 ^{bc}	0.94±0.06 ^{ab}	0.82±0.02 ^c	0.87±0.02 ^{bc}
C20:5n 3	2.60±0.10 ^e	4.26±0.11 ^{bc}	4.55±0.15 ^a	3.98±0.26 ^d	4.44±0.11 ^{ab}	4.01±0.07 ^{cd}	3.86±0.10 ^d
C22:2	0.27±0.01 ^{bc}	0.33±0.03 ^a	0.33±0.05 ^{ab}	0.31±0.06 ^{ab}	0.24±0.03 ^c	0.26±0.02 ^{bc}	0.35±0.04 ^a
C22:6n 3	4.11±0.13 ^a	2.70±0.06 ^d	3.11±0.08 ^b	2.56±0.22 ^d	2.99±0.09 ^{bc}	2.79±0.01 ^{cd}	2.77±0.14 ^d
PUFA	15.42±0.55^a	14.57±0.31^a	15.53±0.29^a	14.59±0.14^a	15.52±0.14^a	15.49±1.13^a	14.45±0.03^b

C:Ham *Caracius*; CFA: *Caracius* Formik Asit; CPL: *Caracius Lb. plantarum*; CAC: *Caracius Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius Lb. brevis* CST: *Caracius Streptococcus* spp
Aynı satırda yer alan farklı harfler (a-d) silaj grupları arasında gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Levrek işleme atığı kullanılarak hazırlanan silajların toplam SFA miktarının (%17.56- %19.12) genel olarak (AAC grubu hariç) ham materyalin toplam SFA miktarı (%18.74) ile istatistiksel olarak benzer olduğu gözlenmiştir (Tablo 19). Miristik asit (C14:0) açısından tüm silaj grupları arasında istatistiksel olarak bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$). Ham levrek işleme atığında %13.13 olarak belirlenen palmitik asit (C16:0) değerinin silaj yapımından sonra benzer olarak %12.20-13.16 değerlerinde olduğu ($p>0.05$), en düşük oranın ise AAC (%12.20) grubunda olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Stearik asit (C18:0) bakımından da tüm gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark belirlenmemiştir ($p<0.05$).

MUFA miktarı ham levrek işleme atığında %43.87 olarak belirlenirken, silajlarda bu miktar %44.31-45.36 arasında gözlenmiştir (Tablo 19). En düşük ve en yüksek palmitoleik asit (C16:1) değerleri sırasıyla ABR (%4.79) ve AAC (%5.37) gruplarında saptanırken, diğer gruplarda istatistiksel olarak bir fark (%5.07-5.21) belirlenmemiştir ($p>0.05$). Ham atık materyalinde oleik asit (C18:1n9) miktarı %35.45 olarak belirlenmiş, silaj gruplarında ise AST grubu dışındaki tüm silaj gruplarında benzer oleik asit oranları belirlenmiştir ($p>0.05$). AST grubunda ise bu oran %36.03 olarak belirlenmiştir. Ham balık atıklarında vaksenik asit (C18:1n7) değeri %2.18 olarak belirlenirken, en yüksek değer ise %3.90 ile AAC grubunda gözlenmiştir.

Toplam PUFA miktarı da ham atıkta %24.44 olup silaj yapımından sonra AFA, APL, AAC ve ABR gruplarında ham materyale benzer (%23.27-23.64) PUFA miktarları tespit edilmiştir ($p>0.05$). PUFA içerisinde en yüksek düzeye sahip yağ asidi linoleik asit (C18:2n6) olmuştur. Silaj gruplarında EPA değerinin (AGL grubu hariç, %2.32) genel olarak ham materyale (%2.61) benzer (%2.51 ile %2.66) oranlarda olduğu görülmüştür. Ham balık atığı ile tüm silaj grupları arasında DHA bakımından istatistiksel olarak farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.05$). Vidotti ve ark. (2011) tilapya atığından hazırlanan asit silajlarının yağ asit profilini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada PUFA içeriğinin asit silajlarda daha düşük olduğunu tespit etmişler ve bu düşüşün yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan yüksek peroksit

içeriğinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Benzer olarak bu çalışmada da asit ve bakteri ile fermente edilen silajlarda PUFA içeriğinde az miktarda azalmalar gözlenmesine rağmen, saptanan bu farkın genel olarak AGL ve AST grupları dışında istatistiksel olarak önemli düzeyde olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 19. Atık levreğin silaj öncesi ve sonrası yağ asit içerikleri.

Yağ asitleri	A	AFA	APL	AAC	AGL	ABR	AST
C12:0	0.00±0.00 ^f	0.16±0.02 ^d	0.19±0.01 ^{ab}	0.05±0.02 ^e	0.16±0.01 ^{cd}	0.18±0.01 ^{bc}	0.20±0.01 ^a
C14:0	2.89±0.23 ^a	2.55±0.19 ^b	2.63±0.09 ^{ab}	2.5±0.24 ^b	2.57±0.10 ^b	2.47±0.16 ^b	2.67±0.06 ^{ab}
C16:0	13.13±0.08 ^a	12.87±0.27 ^{ab}	13.16±0.42 ^a	12.20±0.82 ^b	13.04±0.35 ^{ab}	12.60±0.68 ^{ab}	13.14±0.17 ^a
C17:0	0.17±0.03 ^a	0.17±0.02 ^{ab}	0.18±0.01 ^a	0.16±0.03 ^{ab}	0.20±0.02 ^a	0.13±0.02 ^b	0.17±0.02 ^a
C18:0	2.39±0.04 ^a	2.71±0.18 ^a	2.72±0.08 ^a	2.41±0.04 ^a	2.68±0.02 ^a	2.71±0.50 ^a	2.37±0.24 ^a
C20:0	0.15±0.02 ^c	0.21±0.04 ^{abc}	0.24±0.01 ^{ab}	0.24±0.01 ^{ab}	0.20±0.06 ^{bc}	0.26±0.02 ^a	0.17±0.00 ^c
SFA	18.74±0.31^a	18.66±0.21^a	19.12±0.47^a	17.56±1.08^b	18.86±0.42^a	18.35±0.39^{ab}	18.72±0.13^a
C14:1	0.07±0.01 ^c	0.10±0.01 ^b	0.08±0.02 ^{bc}	0.15±0.01 ^a	0.08±0.02 ^{bc}	0.08±0.02 ^{bc}	0.10±0.01 ^{bc}
C16:1	5.07±0.21 ^{ab}	5.10±0.10 ^{ab}	5.21±0.32 ^{ab}	5.37±0.32 ^a	5.16±0.27 ^{ab}	4.79±0.19 ^b	5.10±0.24 ^{ab}
C17:1	0.27±0.03 ^{bc}	0.28±0.02 ^{bc}	0.29±0.01 ^b	0.28±0.05 ^{bc}	0.41±0.02 ^a	0.23±0.01 ^c	0.28±0.03 ^b
C18:1n 9	35.45±0.34 ^{bc}	35.93±0.39 ^{ab}	35.95±0.16 ^{ab}	35.0±0.20 ^c	35.44±0.18 ^{bc}	35.86±0.35 ^{ab}	36.03±0.38 ^a
C18:1n 7	2.18±0.11 ^d	2.90±0.11 ^c	2.80±0.10 ^c	3.90±0.10 ^a	2.88±0.12 ^c	2.93±0.15 ^c	3.49±0.10 ^b
C20:1	0.44±0.04 ^a	0.36±0.03 ^{bc}	0.40±0.01 ^{ab}	0.40±0.01 ^{ab}	0.35±0.05 ^{bc}	0.40±0.02 ^{ab}	0.34±0.00 ^c
C22:1n 9	0.40±0.05 ^a	0.02±0.01 ^b	0.01±0.00 ^b	0.01±0.00 ^b	0.01±0.01 ^b	0.01±0.01 ^b	0.02±0.01 ^b
MUFA	43.87±0.61^c	44.68±0.54^{ab}	44.74±0.12^{ab}	45.11±0.47^a	44.33±0.17^{bc}	44.31±0.21^{bc}	45.36±0.16^a
C18:2n 6	15.85±0.63 ^{ab}	16.01±0.10 ^a	15.50±0.20 ^{ab}	15.83±0.09 ^{ab}	15.74±0.43 ^{ab}	15.52±0.08 ^{ab}	15.36±0.36 ^b
C18:3n 3	0.41±0.02 ^b	0.43±0.01 ^{ab}	0.47±0.05 ^{ab}	0.49±0.06 ^a	0.41±0.01 ^b	0.43±0.01 ^{ab}	0.44±0.01 ^{ab}
C20:2	0.21±0.01 ^b	0.24±0.02 ^{ab}	0.26±0.02 ^a	0.28±0.01 ^a	0.25±0.04 ^{ab}	0.27±0.04 ^a	0.24±0.00 ^{ab}
C20:4n 6	0.40±0.03 ^b	0.43±0.01 ^{ab}	0.43±0.03 ^{ab}	0.45±0.02 ^a	0.42±0.03 ^{ab}	0.45±0.02 ^a	0.44±0.01 ^{ab}
C20:5n 3	2.61±0.24 ^a	2.51±0.03 ^{ab}	2.62±0.07 ^a	2.66±0.05 ^a	2.32±0.10 ^b	2.59±0.06 ^a	2.55±0.03 ^a
C22:2	0.05±0.01 ^b	0.06±0.00 ^{ab}	0.06±0.00 ^{ab}	0.06±0.01 ^{ab}	0.05±0.01 ^b	0.06±0.01 ^a	0.06±0.01 ^{ab}
C22:6n 3	4.91±0.71 ^a	3.59±0.05 ^c	3.95±0.10 ^{bc}	3.85±0.08 ^{bc}	3.70±0.26 ^c	4.31±0.16 ^b	3.93±0.06 ^{bc}
PUFA	24.44±1.60^a	23.27±0.07^{ab}	23.30±0.31^{ab}	23.61±0.17^{ab}	22.90±0.23^b	23.64±0.28^{ab}	23.02±0.40^b

A: Ham atık; AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent. gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus* spp
Aynı satırda yer alan farklı harfler (a-d) silaj grupları arasında gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Rai ve ark., (2010) Hindistan' da sazan (Rohu ve Catla) iç organlarından elde edilen yağın yağ asit profilini incelemiştir. En fazla bulunan yağ asitlerinin palmitik (C16:0),

palmitoleik (C16:1), stearik (C18:0), oleik (C18:1), linoleik (C18:2n6) ve linolenik asit (C18:3n3) olduğunu tespit etmişlerdir. Doymuş yağ asitleri arasında palmitik asit, tekli doymamış yağ asitleri bakımından ise oleik asidin dominant olduğunu rapor etmişlerdir. Ham iç organda EPA ve DHA miktarları sırasıyla %1.79 ve %2.84 olup fermentasyonun yağ asiti profili üzerine fazla bir değişime neden olmadığı ve fermente üründe EPA miktarlarının %1.41–1.74, DHA miktarlarının ise %2.54–3.02 arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Fermentasyon sonucu sadece palmitoleik asit miktarında azalma olduğunu belirtmişlerdir. Rai ve ark. (2012) ticari değeri olan Hindistan deniz balıklarının (*Nemipterus japonicus*, *Rastrelliger kanagurta*, *Sardinella longiceps*) baş, et ve atık kısmında yağ asit profilini incelemişlerdir. Sonuç olarak, bu atıkların doymamış yağ asitleri bakımından zengin olduğunu ve balık yağına karşı alternatif olarak kullanılacağını ifade etmişlerdir.

Ruthu ve ark. (2014) balık atığı olan baş kısmı LAB kültürleri ile fermente etmişler ve yağ asit profilini ham balık atığı yağının profili ile karşılaştırdıklarında aralarında palmitik asit (C16:0) stearik asit (C18:0), EPA (C20: 5), palmitoleik asit (C16:1), oleik (C18:1) ve linolenik asit (C18:3) miktarlarında istatistiksel bir fark olmadığını rapor etmişlerdir. Benzer sonuçlar, Gbogouri ve ark. (2006)'nın yapmış oldukları bir araştırmada salmonun baş kısmından solvent ekstraksiyonu ve enzim hidrolizi ile elde edilen yağların yağ asit profili için de bulunmuştur. Amit ve ark. (2011) yapmış oldukları çalışmada, tatlısu balıklarının iç organlarını LAB kültürü ile fermente ettikten sonra elde edilen yağın yağ asit profili içinde benzer sonuçlar bulmuşlardır. Goosen ve ark. (2014) alabalık atıklarının formik asit ile yapılan silajdan ekstrakte edilen yağın yağ asit profilini ticari yağın yağ asit profili ile karşılaştırdıklarında; silajlardan elde edilen yağlarda daha düşük SFA, yüksek MUFA içeriğinin olduğunu ve PUFA yönünden ise benzer olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, sonuç olarak atıklardan hazırlanan silaj yağlarının ticari yağın yerine kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Crexi ve ark. (2010) sazan iç organlarından glasiyal asetik asit kullanarak silaj elde etmiş ve bunlardan elde edilen yağı rafine ederek yağ asit profilini incelemişlerdir. Sazan iç organlarından elde edilen ve rafine edilen yağın n3 ve n6 yağ asitleri bakımından zengin olduğunu belirtmişlerdir.

Sonuç olarak benzer şekilde bu projede, formik asit ve LAB kültürleri ile fermente edilerek hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağların yağ asit profilleri ham materyallerinkine benzer bulunmuştur. Özellikle toplam PUFA açısından değerlendirildiğinde, *Equulites klunzingeri*, *Caracius gibelio* ve levrek işleme atıkları ile hazırlanan asit ve fermente silajlardan ekstrakte edilen yağların genel olarak ham materyalin PUFA içeriğiyle benzer oranlarda PUFA içerdiklerinin tespit edilmesi önemli bir sonuçtur. Elde edilen bu verilere göre

iskarta balık türleri ve su ürünleri işleme sanayi atıklarının kullanılması ile katma değeri yüksek ürünler elde edilebileceği ve çevre kirliliğinin azaltılabileceği öngörülmektedir.

4.7.1.2. Silajlardan Ekstrakte Edilen Yağların Kimyasal Kaliteleri

Omega-3 uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri özellikle EPA (20: 5 ω -3) ve DHA (22: 6 ω -3) insan sağlığında pozitif etkilerinden dolayı modern beslenmenin bir parçası olarak kabul edilmektedir (Gogus and Smith, 2010). Balık yağları temel olarak çoklu doymamış uzun zincirli yağ asitlerinden meydana gelmektedir. Bu özellik balıkları diğer besin gruplarından ayıran en önemli faktördür. İnsan beslenmesi için son derece önemli olan çoklu doymamış yağ asitleri insan vücudunda sentezlenemedikleri için besinle alınması gereklidir ve bu nedenle esansiyel yağ asitleri olarak kabul edilmektedirler. Birçok araştırmacı ω -3 PUFA'ların kronik kalp rahatsızlığını, bazı kanser türlerini, romatoid artrit rahatsızlığını, yaşlanma oranını azalttığını ve özellikle çocuklar üzerinde görmeyi ve sinirsel fonksiyonları geliştirdiğini bildirmişlerdir. (Hoffman ve ark., 1993; Freeman, 2000; Simopoulos, 2008). İngiltere Gıda Kuruluşu (British Nutrition Foundation, 1992) dengeli ve sağlıklı bir beslenme için tüketilen diyetlerin günde en az 0,2 g EPA+DHA içermesi gerektiğini önermişlerdir. Bu amaçla balık yağının kapsül ya da şurup şeklinde diyetlere eklenmesi ω -3 PUFA'ların alınması için alternatif bir yöntem olarak görülerek, tüketiciler tarafından büyük talep görmektedir.

Hayvansal protein kaynağı olarak değerlendirilebilen balık silajları önemli miktarda doymamış yağ asitleri içermektedir. Bu projede, bu değerli kaynağın ekstraksiyonu ile hem silajın depolanma ömrünün arttırılması hem de yağ kalitesinin saptanmasıyla insan tüketimi için uygunluğunun belirlenmesi sağlanmıştır.

Projede, yağ asidi kompozisyonları değerlendirilen ekstrakte yağların kalitelerinin belirlenmesi ve insan tüketimi için uygunluğunun değerlendirilebilmesi amacıyla serbest yağ asidi (FFA), peroksit (PV) ve tiyobarbitürik asit (TBA) analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu aşmada proje planında belirtilmemesine rağmen yağların kalitesini daha kapsamlı değerlendirmeye olanak sağlayan *p*-Anisidin ve totoks ölçümleri de ilave edilmiştir. Araştırmada elde edilen FFA, PV ve TBA değerleri (Tablo 20) ile *p*-anisidin ve totoks ölçümleri (Tablo 21) aşağıda verilmiştir.

Tablo 20. Tüm silaj gruplarından ekstrakte edilen yağların FFA (%oleik asit), PV (meq/kg) ve TBA (mg MA/g yağ) değerleri.

	FFA	PV	TBA	
EFA	15.37±0.15 ^a	4.54±0.07 ^e	1.38±0.06 ^c	
ELP	19.30±0.03 ^c	1.11±0.02 ^a	1.15±0.04 ^a	
EAC	17.97±0.09 ^b	3.86±0.28 ^d	1.25±0.06 ^b	
EGL	19.02±0.02 ^c	2.41±0.11 ^c	1.24±0.03 ^b	
EBR	19.24±0.05 ^c	2.07±0.21 ^b	1.19±0.03 ^{ab}	
EST	19.10±0.30 ^c	2.15±0.11 ^{bc}	1.12±0.02 ^a	
CFA	10.72±0.00 ^a	3.39±0.13 ^b	1.03±0.03 ^c	
CLP	23.53±0.06 ^c	1.76±0.13 ^a	0.82±0.13 ^{ab}	
CAC	23.37±0.09 ^b	2.31±0.16 ^a	0.81±0.03 ^a	
CGL	24.33±0.01 ^e	2.14±0.35 ^a	0.86±0.03 ^b	
CBR	24.59±0.05 ^f	2.14±0.39 ^a	0.81±0.02 ^a	
CST	23.84±0.01 ^d	2.02±0.45 ^a	0.84±0.03 ^{ab}	
AFA	7.03±0.71 ^a	2.12±0.48 ^a	1.07±0.24 ^b	EFA:
ALP	13.88±0.14 ^b	1.14±0.56 ^a	0.67±0.02 ^a	<i>Equulites</i>
AAC	13.16±0.30 ^b	1.41±0.45 ^a	0.73±0.08 ^a	<i>klunzingeri</i>
AGL	19.28±0.08 ^e	1.91±0.04 ^a	0.81±0.09 ^a	Formik
ABR	16.71±0.07 ^d	1.37±0.02 ^a	0.75±0.03 ^a	Asit; EPL:
AST	15.57±0.14 ^c	1.18±0.96 ^a	0.73±0.06 ^a	<i>Equulites</i>
				<i>klunzingeri</i>
				<i>Lb.</i>

plantarum; EAC: *Equulites klunzingeri Pd. acidilactici*; EGL: *Equulites klunzingeri Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri Streptococcus spp*

CFA: *Caracius gibelio* Formik Asit; CPL: *Caracius gibelio Lb. plantarum*; CAC: *Caracius gibelio Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius gibelio Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius gibelio Lb. brevis* CST: *Caracius gibelio Streptococcus spp* AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent.gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus spp*

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-f) aynı ham materyalden yapılmış silaj gruplarından ekstrakte edilen yağlar arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p < 0.05). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Serbest yağ asitleri (FFA) esterleşmiş lipitlerden çok daha hızlı bir şekilde oksidize olabildikleri için acılaştırmanın gelişimi için önemli bir indikatördür (Ashton ve ark., 2002). Araştırmada *Equulites klunzingeri* ile hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağlarda FFA değerinin 15.37 – 19.30 (% oleik asit) arasında olduğu, istatistiksel olarak en düşük FFA'nin formik asitle yapılan EFA grubunda, en yüksek değer ise *Lb. plantarum* ile hazırlanan ELP grubunda olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). *Caracius gibelio* ile hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağlarda ise en düşük değer formik asitle hazırlanan CFA grubunda, en yüksek değer ise *Lb. brevis* ile hazırlanan CBR grubunda olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Benzer şekilde, atıklardan hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağlarda da en düşük FFA değeri formik asitle hazırlanan AFA grubunda (7.30 % oleik asit) tespit edilmiştir ($p<0.05$). Araştırmada genel olarak formik asitle hazırlanan silaj gruplarında FFA değerinin düşük olduğu görülmesine rağmen, acılaştırmanın bir sonraki adımı olan peroksitlerin (PV) gelişimine bakıldığında bu gruplarda daha yüksek değerlerin tespit edildiği görülmektedir (Tablo 20).

Genel olarak değerlendirildiğinde, tüm silaj gruplarından ekstrakte edilen balık yağlarında ölçülen FFA değerlerinin 7.03 – 24.59 (% oleik asit) aralığında olduğu ve bu değerlerin daha önceki yaptığımız çalışmalara göre yüksek olduğu dikkatimizi çekmiştir. Ancak benzer şekilde Özoğul ve ark. (2009)'da silaj gibi asitli bir gıda olan marinatlarda yaptıkları bir çalışmada, kadife balığı (*Tinca tinca*) yağlarındaki FFA düzeyini 12.52 -24.01 (% oleik asit) aralığında belirlemişlerdir. Crexi ve ark. (2010) sazan iç organlarından hazırlanan balık unu ve balık silajlarından ekstrakte edilen yağların rafine edilmesi prosesi süresince ham, musilaj giderme (degumming) nötralizasyon (neutralization), ağartma (bleaching), vinterizasyon (winterization) ve koku giderme (deodorisation) aşamalarında bu yağların kalitelerini incelemişlerdir. Araştırmacılar silajdan elde edilen ham yağların FFA değerlerinin balık unu prosesinden elde edilen ham yağların FFA değerlerine göre iki kat fazla olduğunu (sırasıyla 6.63 – 3.35 % oleik asit) ancak rafinasyon işlemi sonunda iki grup arasında fark gözlenmediğini belirtmişlerdir (sırasıyla 0.08 – 0.09 % oleik asit).

Peroksitler (PV) tatsız kokusuz bileşikler olduğu için tüketiciler tarafından ayırt edilemezler. Ancak bunlar bizim acılaştırmayı algılamamızı sağlayan aldehitler, ketonlar ve karboksilik asitler gibi ikincil ürünlerin ortaya çıkmasına neden olurlar. Araştırmada elde edilen yağların peroksit değerlerine bakıldığında, *Equulites klunzingeri* ile hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağlarda PV değerinin 1.11 – 4.54 meq/kg arasında olduğu, istatistiksel olarak en düşük PV değerinin *Lb. plantarum* ile hazırlanan ELP grubunda, en yüksek değer ise formik asitle yapılan EFA grubunda olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). *Caracius gibelio* ile hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağlarda ise en düşük değer *Lb. plantarum* hazırlanan CLP grubunda (1.76 meq/kg), en yüksek değer ise formik asitle

hazırlanan CFA grubunda (3.39 meq/kg) olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). Ancak, levrek atıklarından hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağlarda PV değerinin 1.14 – 2.12 meq/kg arasında olduğu ve gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$).

Araştırmada *Equulites klunzingeri* ve *Caracius gibelio* gruplarında asit silajlarda gözlenen değerlerin fermente silajlarda bulunan değerlerden daha yüksek olduğu görülmesine rağmen, Türk Gıda Kodeksine göre rafine yağlarda 10 meq/kg, soğuk preslenmiş sızma yağlarda 15 meq/kg olarak verilen sınır değerlerin hiçbir silaj grubundan elde edilen yağlarda aşılmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte, Gracey ve ark. (1999) tarafından PV 5 ve 10 arasında yağın bozulma gösterdiği PV 5 meq/kg in altında yağın okside olmadığı bildirilmiştir. Özyurt ve ark. (2013) Türkiye’de ticari olarak satılan balık yağı ve kapsüllerinin kalitelerini araştırdıkları çalışmada bazı balık yağı kapsüllerinde 0.86 -0.91 meq/kg yağ gibi düşük PV değeri gözlenmesine rağmen, genel olarak 4.01- 6.44 meq/kg yağ aralığında PV değeri tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Benzer şekilde Ritter ve ark. (2013) Amerika piyasasında satılan balık yağlarının 1 ile 14.8 meq/kg yağ arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Sonuç olarak, bu projede PV değerine göre oksidatif kararlık bakımından özellikle fermente silajlardan ekstrakte edilen yağların güvenli olduğu söylenebilir.

TBA değeri tiyobarbutirik asit ile reaksiyona giren bileşikler ifade etmektedir ve daha çok malonaldehit (MA) ile reaksiyonu ile ilişkilendirilir ancak alkenler, alkadienler ve lipid yapısında olmayan karboniller gibi diğer dekompozisyon ürünleri de TBA ile reaksiyona girmektedir (Shahidi ve Wanasundara, 2002). Lipit oksidasyonunun önemli bir göstergesi olan TBA değerlerine bakıldığında, *Equulites klunzingeri*, *Caracius gibelio* ve balık atıkları ile hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağlarda bu değerler sırasıyla 1.12–1.38, 0.81-1.03 ve 0.67-1.07 mg MA/g yağ değerleri arasında olduğu görülmüştür. Benzer şekilde Özoğul ve ark. (2016) ticari olarak satılan ayçiçek, fındık, kanola, soya, mısır ve zeytin yağında TBA değerlerini 0.77 ile 1.22 mg MA/g yağ olduğunu belirtmişlerdir. Bu projede, tüm gruplarda istatistiksel olarak en yüksek TBA değeri formik asitle yapılan EFA, CFA ve AFA gruplarında tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Bu durumda, TBA değerlerine göre, asit silajda oksidasyonun fermente silajlara göre daha hızlı geliştiği söylenebilmektedir.

Balık yağlarında yüksek anisidin (AV) değeri birincil oksidasyon ürünlerinin ikincil oksidasyon ürünlerine dönüştüğünü gösterir ki bu lipit oksidasyonunun ileri aşamalarını ifade eder. Totox değeri toplam lipit yıkım ürünlerini tanımlamaktadır ve bir ürünün oksidatif durumu hakkında yeterli bilgi sağlamaktadır. Totox değeri anisidin değerine PV’in iki katının eklenmesiyle (2PV+AV) hesaplanmıştır. Projede silajlardan ekstrakte edilen yağların anisidin

ve totoks değerleri Tablo 21' de verilmiştir.

Tablo 21. Tüm silaj gruplarından ekstrakte edilen yağların anisidin (p-AV) ve totoks değerleri.

	Anisidin	Totoks	
EFA	14.94±0.13 ^d	24.04	
ELP	8.73±0.63 ^b	10.95	
EAC	8.66±0.21 ^b	16.38	
EGL	9.52±0.29 ^{bc}	14.34	
EBR	10.27±0.88 ^c	14.41	
EST	5.73±0.08 ^a	10.03	
CFA	17.84±0.28 ^c	24.62	
CLP	9.15±0.13 ^b	12.67	
CAC	7.70±0.34 ^a	12.32	
CGL	9.02±0.84 ^b	13.30	
CBR	9.47±0.55 ^b	13.75	
CST	9.07±0.44 ^b	13.11	
AFA	13.08±0.30 ^c	17.33	
ALP	8.39±0.12 ^a	10.67	
AAC	9.01±0.78 ^a	11.83	EFA: <i>Equulites</i>
AGL	8.11±0.03 ^a	11.93	<i>klunzingeri</i> Formik
ABR	11.14±0.35 ^b	13.88	Asit; EPL: <i>Equulites</i>
AST	8.04±0.06 ^a	10.40	<i>klunzingeri</i> <i>Lb.</i>
			<i>plantarum</i> ; EAC:
			<i>Equulites klunzingeri</i>
			<i>Pd. acidilactici</i> ; EGL:

Equulites klunzingeri *Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri Streptococcus* spp
CFA: *Caracius gibelio* Formik Asit; CPL: *Caracius gibelio Lb. plantarum*; CAC: *Caracius gibelio Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius gibelio Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius gibelio Lb. brevis* CST: *Caracius gibelio Streptococcus* spp AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent.gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus* spp Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-d) aynı ham materyalden yapılmış silaj gruplarından ekstrakte edilen yağlar arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p < 0.05). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Kanada sağlık birimi (HC, 2009) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO) insan tüketimi için balık yağlarında anisidin değerinin kabul edilebilirlik limitinin ≤20 düzeyinde olması gerektiğini bildirmiştir (GOED, 2014). Pak (2005) evsel uygulamalar sırasında balık yağının kararlılığı ve kalitesi üzerine yaptığı bir araştırmada anisidin değerini 19.8 olarak rapor etmiştir. zyurt ve ark (2013) piyasada satışa sunulan balık yağları üzerine yaptıkları bir araştırmada balık yağı kapsüllerinin anisidin değerlerinin (5.36- 8.90) balık yağı şuruplarından (21.86 - 26.74) nemli derecede daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir.

Araştırmada *Equulites klunzingeri* ile hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağlarda AV değerinin formik asitle hazırlanan EFA grubundan ekstrakte edilen yağlarda 14.94, bakteriler ile fermente olarak hazırlanan silajlardan elde edilen yağlarda ise 5.73–10.27 arasında olduğu belirlenmiştir. Bu grupta, istatistiksel olarak en yüksek AV değerinin formik asitle yapılan EFA grubunda, en düşük değer ise *Streptococcus* spp ile hazırlanan EST grubunda olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). *Caracius gibelio* ile hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağlarda yine en yüksek değer formik asitle hazırlanan CFA grubunda, en düşük değer ise *Pd. acidilactici* ile hazırlanan CAC grubunda olduğu görülmüştür ($p<0.05$). *Caracius* grubunda bakterilerle hazırlanan diğer silaj yağlarında bu değer 7.70-9.47 düzeylerinde bulunmuştur. Benzer şekilde, atıklardan hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağlarda da en yüksek AV değeri formik asitle hazırlanan AFA grubunda (13.08 p-AV) tespit edilmiştir ($p<0.05$). Araştırmada genel olarak formik asitle hazırlanan silaj gruplarından elde edilen yağlarda anisidin değerinin yüksek olduğunun görülmesine rağmen, bu gruplarda bile verilen 20 sınır değerinin altında kaldığı saptanmıştır (Tablo 21).

Özyurt ve ark (2013) yaptıkları bir araştırmada piyasada satılan balık yağı kapsüllerinin totoks değerini (7.08 – 17.35) balık yağları için önerilen sınır değeri olan 26 totoks değerini (HC, 2009) aşmadığı bulmalarına rağmen, balık yağı şuruplarında totoks değerinin (34.72 – 38.06) kabul edilebilir üst sınır değerini oldukça aştığını rapor etmişlerdir. Bu projede, formik asitle hazırlanan *Equulites klunzingeri* (EFA), *Caracius gibelio* (CFA) ve levrek işleme atıkları (AFA) ile hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağlarda hesaplanan totoks değeri sırasıyla 24.04, 24.62 ve 17.33 olarak bulunmuştur (Tablo 21). Bakterilerle fermente edilerek hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağlarda ise genel olarak bu değer 10.03-16.33 arasında bulunmuştur. Tüm gruplarda hesaplanan totoks değerinin kabul edilebilir üst sınır değerini aşmadığı görülmüştür. Bununla birlikte, araştırmada genel olarak formik asitle hazırlanan silajlardan elde edilen yağların totoks değerlerinin laktik asit bakterileriyle hazırlanan silajların totoks değerlerinden yüksek olduğu belirlenmiştir ve buna göre bu gruplardan elde edilen yağların daha iyi kalitede oldukları söylenebilmektedir.

4.8. Yağları Ayrılan Silajların Kurutulması

Projede, materyal metot bölümünde kurutulma şartları anlatılan toz hale gelmiş asit ve fermente silajların besin madde bileşenleri, amino asit kompozisyonları, biyojenik amin, organik asit içerikleri, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri ve son olarak toz haldeki silaj örneklerinin in-vitro gaz üretim yöntemi kullanılarak hayvan beslemede kullanılabilirlikleri

belirlenmiştir. Bu amaçla gerçekleştirilen analizlerden elde edilen bulgu ve sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.8.1. Silaj Tozlarının Besin Madde Bileşenleri ve Amino Asit Kompozisyonları

Araştırmada elde edilen verilerden silaj tozlarının besin madde bileşenleri Tablo 22’de görülmektedir. *Equulites klunzingeri*, *Caracius gibelio* ve levrek atıklarından kurulan asit ve fermente silaj tozlarında kuru madde miktarlarının sırasıyla % 89.27-%91.00, %88.08-89.93, % 89.60-%91.32 oranlarında olduğu belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizlere göre *Equulites* ve atık gruplarının kuru madde oranlarında bazı farklılıklar gözlenmesine rağmen, *Caracius* grubunda bulunan silajların kuru madde oranlarında önemli bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Genel olarak hayvan yemlerinde %12’nin üzerindeki nem oranının uzun süreli depolamalarda sorun oluşturacağı bilinmektedir. Araştırmada kurutulan tüm örneklerin nem içerikleri bu değerin altında olmuştur.

Tablo 22. Silaj tozlarının besin madde bileşenleri.

		Kuru madde (%)	Ham kül (%)	Ham protein (%)	Lipit (%)	Karbonhidrat (%)
<i>Equulites klunzingeri</i>	EFA	91.00±0.89 ^b	8.43±0.28 ^a	32.03±0.08 ^b	3.81±0.01 ^a	46.73
	ELP	89.35±0.47 ^a	8.17±0.69 ^a	32.59±0.21 ^c	3.47±0.59 ^a	45.12
	EAC	90.01±0.15 ^{ab}	9.19±0.54 ^b	31.29±0.15 ^a	4.02±0.24 ^a	45.51
	EGL	90.42±1.70 ^{ab}	8.64±0.18 ^{ab}	32.85±0.13 ^d	4.03±0.26 ^a	44.90
	EBR	89.27±1.19 ^a	8.15±0.39 ^a	32.50±0.07 ^c	3.71±0.13 ^a	44.91
	EST	90.26±0.36 ^{ab}	8.39±0.34 ^a	32.69±0.01 ^{cd}	3.93±0.13 ^a	45.25
<i>Caracius gibelio</i>	CFA	89.93±0.98 ^a	7.74±0.95 ^a	30.91±0.14 ^a	3.40±0.29 ^{abc}	47.88
	CLP	88.48±0.55 ^a	6.72±0.35 ^a	33.97±0.00 ^e	3.31±0.63 ^{abc}	44.48
	CAC	89.02±0.38 ^a	6.73±0.25 ^a	33.19±0.06 ^d	3.16±0.67 ^{ab}	45.94
	CGL	89.29±1.33 ^a	6.83±0.30 ^a	32.10±0.32 ^c	2.90±0.03 ^a	47.46
	CBR	89.84±0.51 ^a	7.77±0.20 ^a	33.87±0.09 ^e	2.95±0.41 ^{bc}	45.25
	CST	88.08±3.86 ^a	7.70±1.53 ^a	31.38±0.19 ^b	4.06±0.25 ^c	44.94
Atık	AFA	90.51±0.78 ^{bc}	9.28±0.59 ^a	30.88±0.06 ^a	3.66±0.01 ^a	46.69
	ALP	90.18±0.27 ^{ab}	9.06±0.78 ^a	32.63±1.09 ^b	3.47±0.17 ^a	45.02
	AAC	91.32±0.31 ^d	8.82±0.50 ^a	32.70±0.56 ^b	3.32±0.29 ^a	46.48
	AGL	91.26±0.26 ^d	8.91±0.44 ^a	32.85±0.12 ^b	3.20±0.15 ^a	46.30
	ABR	90.82±0.82 ^{cd}	9.84±0.22 ^a	32.94±0.06 ^b	3.60±0.07 ^a	44.44
	AST	89.60±0.60 ^a	8.73±0.43 ^a	30.65±0.07 ^a	3.41±0.47 ^a	46.81

EFA: *Equulites klunzingeri* Formik Asit; EPL: *Equulites klunzingeri Lb. plantarum*; EAC: *Equulites klunzingeri Pd. acidilactici*; EGL: *Equulites klunzingeri Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri Streptococcus spp*

CFA: *Caracius gibelio* Formik Asit; CPL: *Caracius gibelio* *Lb. plantarum*; CAC: *Caracius gibelio* *Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius gibelio* *Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius gibelio* *Lb. brevis* CST: *Caracius gibelio* *Streptococcus* spp AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent. gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus* spp Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-d) aynı ham materyalden yapılmış silaj grupları arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, $n=3$.

Elde edilen tozların ham kül içerikleri *Equulites* grubunda %8.15–9.19, *Caracius* grubunda %6.83–7.77 ve atık grubunda %8.73–9.84 aralığında belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre *Equulites* grubunda yer alan silaj tozlarının kuru madde oranlarında bazı farklılıklar gözlenmesine rağmen, *Caracius* ve atık gruplarında bulunan silajların kuru madde oranlarında fark gözlenmemiştir ($p > 0.05$). Genel olarak değerlendirildiğinde atık grubunda bulunan silaj tozlarının ham materyale bağlı olarak diğer gruplara göre yüksek olduğu görülmüştür.

Silaj tozlarının yağ oranları *Equulites* grubunda %3.71 – %4.03, *Caracius* grubunda %2.95 – %4.06 ve atık grubunda %3.2 – %3.66 oranlarında bulunmuştur. Yağların yağ silajlardan ekstraksiyonu sonucunda, tüm silaj gruplarının kuru tozlarında yağ içeriklerinin düştüğü görülmüştür. Özellikle *Equulites* grubunda ve atık grubu altında yer alan silaj tozlarının yağ içeriklerinin istatistiksel olarak benzer seviyelerde olduğu belirlenmiştir ($p > 0.05$). Balık unları da uygulanan teknolojiye göre %1'den az yağ içerebildikleri gibi %20 ve daha fazla oranlarda yağ içerebilmektedir (Polat, 2011). Yüksek oranda yağ içeren balık unlarının çabuk bozulduğu bilindiği için genellikle düşük oranlarda yağ içeren balık unları üretilmektedir. Benzer düşünceyle bu projede yağ balık silajlarının yağ içeriklerinin azaltılarak insan tüketimi amaçlı kullanımın değerlendirilmesinin silaj tozlarının raf ömrünün uzatılması açısından da faydalı olacağı düşünülmektedir.

Araştırmada, *Equulites* grubunda yer alan asit ve fermente silaj tozlarının protein içeriklerine bakıldığında istatistiksel olarak en yüksek protein oranı EGL grubunda (%31.29), en düşük oran ise EAC grubunda (%32.85) belirlenmiştir. *Caracius* ham materyali ile hazırlanan silaj tozlarında ise istatistiksel olarak en yüksek protein oranı % 33.97 ile CLP grubunda, en düşük protein oranı ise %30.91 ile CFA grubunda görülmüştür. Atık grubunda gözlenen ham protein değerleri de %30.65 - 32.94 oranlarında bulunmuştur. Balık unlarının protein içeriklerine bakıldığında ortalama % 55 - 70 civarında protein içerdikleri görülmektedir. Örneğin hamsiden üretilen balık ununda TSE'ye (TS2033) göre en az %65 balık unu içermelidir (Polat, 2011). Balık silajı tozları da direk kurutulabilirse bu oranlarda protein içerecektir. Ancak materyal metot bölümünde ayrıntılı olarak bahsedildiği gibi püskürtmeli kurutucuda kurutma çemberine yapışmaları önlemek için kuru maddenin 1:1 oranında maltodekstrin ilavesi yapılmıştır. Bu uygulamaya diğer melas gibi şeker içeren fermente ürünlerin kurutulmasında da yaygın olarak yer verilmektedir. Benzer şekilde Abdul-

Hamid ve ark (2002) tilapya (*Oreochromis mossambicus*) protein hidrolizatlarının püskürtmeli kurutucuda kurutulmasında maltodekstrin kullanmışlar ve hidrolizat tozlarının %37.7 protein içerdiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar %2.56 oranında yağ ve % 8.56 oranında ham kül belirledikleri tozlarda toplamda %48.82 protein, yağ ve ham kül değerine karşın % 49.6 oranında karbonhidrat içerdiğini ve bu karbonhidrat içeriğinin temel olarak eklenen maltodekstrinden kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Bu projede de hesaplanan karbonhidrat değerleri *Equulites* grubu silaj tozları için %44.90 - 46.73, *Caracius* grubu silaj tozları için %44.48 - 47.88 ve atık grubu silaj tozları için %44.44 - 46.81 olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde ham protein, yağ ve kül oranlarının toplamı *Equulites* grubu silaj tozlarında % 44.27 - 45.52, *Caracius* grubu silaj tozlarında %41.83 - 44.59 ve atık grubu silaj tozlarında %42.79 - 45.16 olduğu ve hesaplanan karbonhidrat oranlarının genel olarak kurutma aşamasında eklenen orana (1:1'e) denk geldiği görülmektedir.

Projede asit ve bakterilerle hazırlanan balık silajı tozlarının amino asit kompozisyonları Tablo 23, 24 ve 25'de görülmektedir.

Tablo 23. *Equulites klunzingeri*'den yapılan asit ve fermente silaj tozlarının amino asit içerikleri (mg/100g toz silaj).

Amino Asitler	EFA	EPL	EAC	EGL	EBR	EST
L-Alanin	2569±1.41 ^a	3063±68.59 ^c	3182±0.71 ^d	2832±52.33 ^b	3223±5.66 ^d	3448±7.78 ^e
Glisin	1749±31.82 ^d	1313±57.98 ^{ab}	1249±13.44 ^a	1258±12.73 ^a	1374±14.14 ^{bc}	1422±10.61 ^c
L-Valin	2553±405.17 ^b	1600±130.11 ^a	1572±14.85 ^a	1482±36.06 ^a	1569±82.02 ^a	1714±97.58 ^a
L-Lösin	3322±56.57 ^e	1851±99.70 ^{bc}	1806±0.71 ^b	1693±25.46 ^a	1943±19.09 ^c	2192±4.95 ^d
L-İsolösin	2479±43.13 ^e	1716±21.21 ^b	1836±3.53 ^c	1637±31.82 ^a	1757±14.85 ^b	1933±1.41 ^d
L-Treonin	937±31.11 ^c	308±39.59 ^b	183±1.41 ^a	168±3.54 ^a	176±0.71 ^a	191±1.41 ^a
L-Serin	856±46.67 ^c	314±38.18 ^b	207±6.36 ^a	254±2.83 ^a	280±12.02 ^{ab}	300±6.36 ^{ab}
L-Prolin	1451±36.77 ^b	986±65.05 ^{ab}	966±5.66 ^{ab}	911±16.97 ^{ab}	1009±7.07 ^{ab}	1582±709.94 ^b
L-Arjinin	1153±39.60 ^c	891±45.96 ^a	1180±6.36 ^c	984±16.97 ^b	1025±14.85 ^b	1211±3.54 ^c
L-Aspartik asit	1417±4.24 ^d	867±33.94 ^b	667±14.85 ^a	1114±23.34 ^c	1404±2.12 ^d	908±8.49 ^b
L-Methionin	1031±75.66 ^d	590±25.46 ^a	679±39.60 ^b	565±1.41 ^a	697±6.36 ^b	807±3.54 ^c
L-Glutamik asit	2819±233.64 ^c	1965±115.97 ^a	1868±0.00 ^a	2879±56.57 ^c	3360±4.95 ^d	2423±12.02 ^b
L-Fenilalanin	1688±24.75 ^d	811±50.91 ^b	760±27.58 ^b	662±8.49 ^a	787±9.89 ^b	893±2.12 ^c
L-Lizin	3440±42.43 ^{cd}	3296±28.28 ^{bc}	2846±96.87 ^a	2835±50.91 ^a	3206±131.52 ^b	3592±113.14 ^d
L-Histidin	614±58.69 ^d	509±51.62 ^c	374±2.12 ^{ab}	385±7.07 ^{ab}	426±10.61 ^b	439±1.41 ^b
L-Tirozin	1374±43.84 ^d	467±54.45 ^b	302±9.89 ^a	319±4.24 ^a	609±35.36 ^c	551±16.97 ^c

EFA: *Equulites klunzingeri* Formik Asit; EPL: *Equulites klunzingeri* *Lb. plantarum*; EAC: *Equulites klunzingeri* *Pd. acidilactici*; EGL: *Equulites klunzingeri* *Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri* *Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri* *Streptococcus* spp Aynı satırda yer alan farklı harfler (a-e) silaj grupları arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=2.

Tablo 24. *Caracius gibelio*' dan yapılan asit ve fermente silaj tozlarının amino asit içerikleri (mg/100g toz silaj).

Amino Asitler	CFA	CPL	CAC	CGL	CBR	CST
L-Alanin	2346±27.58 ^e	1570±0.00 ^a	1620±28.99 ^b	1779±23.33 ^d	1764±12.73 ^d	1689±7.07 ^c
Glisin	2257±14.14 ^d	1623±6.36 ^b	1421±10.61 ^a	1641±19.79 ^b	1790±4.95 ^c	1647±13.44 ^b
L-Valin	1630±24.04 ^c	1090±5.66 ^a	1096±20.51 ^a	1205±26.16 ^b	1094±19.09 ^a	1065±13.44 ^a
L-Lösin	2459±47.38 ^d	1655±2.83 ^a	1693±16.14 ^{ab}	1841±31.11 ^c	1739±7.07 ^b	1760±8.89 ^b
L-İsolösin	1815±120.21 ^b	1200±6.36 ^a	1165±18.39 ^a	1277±24.04 ^a	1181±13.44 ^a	1191±0.71 ^a
L-Treonin	429±4.95 ^f	376±0.00 ^e	244±4.95 ^a	308±4.24 ^b	335±4.24 ^c	367±0.71 ^d
L-Serin	718±0.71 ^e	569±6.36 ^c	451±3.54 ^a	522±5.66 ^b	569±3.54 ^c	603±7.78 ^d
L-Prolin	1324±8.49 ^e	933±2.83 ^{ab}	888±10.61 ^a	997±12.02 ^c	1061±2.83 ^d	984±3.54 ^{bc}
L-Arjinin	879±13.44 ^d	496±0.71 ^a	583±7.07 ^b	652±13.44 ^c	643±2.12 ^c	647±4.24 ^c
L-Aspartik asit	1595±4.24 ^e	1037±2.12 ^b	858±6.36 ^a	1385±14.14 ^d	1041±13.44 ^b	1237±6.36 ^c
L-Methionin	634±6.36 ^c	349±1.41 ^a	339±2.83 ^a	433±6.36 ^b	396±28.99 ^b	417±4.95 ^b
L-Glutamik asit	3672±60.81 ^e	2377±9.89 ^b	2120±38.18 ^a	2890±38.18 ^d	2351±44.55 ^b	2759±11.31 ^c
L-Fenilalanin	1204±7.79 ^d	812±3.53 ^a	883±2.83 ^b	964±7.78 ^c	862±16.97 ^b	873±8.49 ^b
L-Lizin	4121±24.04 ^d	3008±55.15 ^b	2644±48.84 ^a	3143±24.75 ^c	2932±5.66 ^b	2908±86.27 ^b
L-Histidin	556±6.36 ^e	435±0.00 ^b	359±2.12 ^a	456±6.36 ^c	456±3.54 ^c	469±1.41 ^d
L-Tirozin	891±26.16 ^c	650±0.00 ^a	677±18.38 ^a	797±7.78 ^b	666±38.89 ^a	646±24.04 ^a

CFA: *Caracius gibelio* Formik Asit; CPL: *Caracius gibelio* *Lb. plantarum*; CAC: *Caracius gibelio* *Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius gibelio* *Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius gibelio* *Lb. brevis* CST: *Caracius gibelio* *Streptococcus* spp
Aynı satırda yer alan farklı harfler (a-e) silaj grupları arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=2.

Tablo 25. Levrek işleme atıklarından yapılan asit ve fermente silaj tozlarının amino asit içerikleri (mg/100g toz silaj).

Amino Asitler	AFA	APL	AAC	AGL	ABR	AST
L-Alanin	2122±28.28 ^a	2784±43.13 ^e	2457±5.66 ^b	2589±13.44 ^c	2417±22.63 ^b	2650±0.00 ^d
Glisin	2471±33.24 ^e	2039±19.79 ^d	1835±9.19 ^b	2068±18.38 ^d	1503±16.26 ^a	1945±5.66 ^c
L-Valin	1130±35.36 ^c	1153±51.62 ^c	1047±59.39 ^c	932±74.95 ^b	825±0.00 ^a	936±4.24 ^b
L-Lösin	2004±23.33 ^d	1520±24.04 ^c	1498±15.56 ^c	1073±9.19 ^a	1044±11.31 ^a	1246±0.71 ^b
L-İsolösin	1361±25.46 ^e	1299±4.95 ^d	1212±0.71 ^c	1082±0.71 ^b	1020±0.71 ^a	1211±8.49 ^c
L-Treonin	844±10.61 ^c	274±6.36 ^b	252±3.54 ^b	214±2.12 ^a	193±18.38 ^a	943±12.73 ^d
L-Serin	1006±14.14 ^d	295±10.61 ^c	289±5.66 ^c	300±9.89 ^c	202±9.89 ^a	235±9.19 ^b
L-Prolin	1591±4.95 ^e	1327±8.49 ^{cd}	1228±10.61 ^b	1321±9.19 ^c	1013±7.78 ^a	1344±2.83 ^d
L-Arjinin	1058±2.83 ^{de}	1071±26.87 ^e	995±20.51 ^c	1025±7.78 ^{cd}	868±5.66 ^a	914±14.14 ^b
L-Aspartik asit	933±24.04 ^c	714±15.56 ^a	802±14.85 ^b	986±8.49 ^d	1009±16.97 ^d	1442±19.09 ^e
L-Methionin	425±13.44 ^e	403±2.12 ^d	336±0.71 ^c	275±0.71 ^b	258±2.12 ^a	338±1.41 ^c
L-Glutamik asit	1981±9.19 ^b	1744±27.58 ^a	1947±2.12 ^b	2427±21.92 ^d	2145±14.14 ^c	2662±6.36 ^e
L-Fenilalanin	1060±53.74 ^d	629±45.25 ^c	588±10.61 ^{bc}	457±6.36 ^a	430±7.78 ^a	543±21.20 ^b
L-Lizin	2546±103.95 ^d	2411±101.12 ^{cd}	2370±103.24 ^{cd}	2243±79.90 ^{bc}	2158±94.04 ^b	1667±44.55 ^a
L-Histidin	567±4.95 ^c	415±4.95 ^b	408±1.41 ^b	415±1.41 ^b	330±2.83 ^a	337±0.71 ^a
L-Tirozin	772±41.72 ^e	513±11.31 ^d	416±10.61 ^b	465±6.36 ^c	490±0.71 ^{cd}	269±4.95 ^a

AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent. gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus* spp
Aynı satırda yer alan farklı harfler (a-e) silaj grupları arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=2.

Iwasaki ve Harada (1985) 14 farklı balık türünün amino asit bileşimleri üzerine yaptıkları bir araştırmada da, glutamik asit, aspartik asit ve lizin baskın amino asitler olduklarını belirtmişlerdir. Benzer şekilde, Manthey ve ark (1988), üç farklı kedi balığı türünün (*Silurus glanis*, *Ictalurus punctatus*, *Clarias gariepinus*) amino asit bileşimleri üzerine yaptıkları bir araştırmada en fazla aspartik asit, glutamik asit ve lizin amino asitlerinin olduğunu saptamışlardır. Seo ve ark. (1998), okyanusların mezopelajik zonlarında yaşayan 12 myctophid balık türünün amino asit kompozisyonlarını inceledikleri bir araştırmada, Farmanfarman ve Sun (1999) ise çizgili levrek melezleri (*Morone saxatilis*♀ x *Morone chrysops*♂) üzerine yaptıkları bir araştırmada, tüm türlerde en fazla bulunan amino asitlerin glutamik asit, aspartik asit, lizin, lösin ve arjinin amino asitleri olduğunu rapor etmişlerdir. Bu projede de, silaj yapılmadan önce örneklenen ham *Equulites klunzingeri*'de lizin, glutamik asit, lösin, alanin ve aspartik asitin 1131-2051 mg/100g (yaş örnekte) oranlarıyla baskın amino asitler olduğu, geri kalan amino asitlerin 322-854 mg/100 g seviyelerinde olduğu belirlenmiştir. Ham *Caracius gibelio*'da baskın olan amino asitler 1302-2198 mg/100g seviyeleriyle lizin, glutamik asit, glisin, aspartik asit, alanin ve lösin' dir. İşlenmiş levrek atıklarında da yine glutamik asit, aspartik asit, lösin, alanin ve glisin (1055-1498 mg/100g) baskın amino asitler olarak belirlenmiştir.

Araştırmada formik asitle hazırlanan *Equulites* grubu silaj tozlarında (EFA) esansiyel amino asitlerden valin, lösin, isolösin, treonin, methionin, fenilalanin ve lizin (EST grubu hariç) amino asitlerinin miktarlarının genel olarak fermente silaj tozlarından (EPL, EAC, EGL, EBR ve EST) istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). *Equulites klunzingeri* ile hazırlanan fermente gruplar arasında ise EST grubu silaj tozlarının lösin, isolösin, methionin, fenilalanin ve lizin esansiyel amino asitlerinin diğer fermente grupların içeriğinden daha yüksek miktarlarda olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Tüm bakteri grupları içerisinde genel olarak en düşük esansiyel amino asitin treonin, esansiyel olmayan amino asitin ise serin olduğu görülmektedir. Esansiyel amino asitlerin (E) esansiyel olmayan amino asitlere (NE) oranının gösteren E/NE oranı EFA, EPL, EAC, EGL, EBR ve EST gruplarında sırasıyla 1.10, 0.98, 0.97, 0.83, 0.80 ve 0.92 olarak belirlenmiştir.

Caracius grubu silaj tozları içinde de esansiyel amino asitlerin (valin, lösin, isolösin, treonin, methionin, fenilalanin ve lizin) formik asitle hazırlanan CFA grubunda bakterilerle hazırlanan gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksek oranlarda olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). *Caracius* ile hazırlanan bakteri grupları içerisinde valin, lösin, fenilalanin ve lizin amino asitlerinin CGL grubunda diğer fermente gruplara göre daha yüksek oranlarda olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Ancak bu grupta yer alan silaj tozları E/NE oranlarına göre

değerlendirildiğinde ilk sırada 0.90 oranı ile CAC grubu ve bunu sırasıyla 0.88, 0.86, 0.83, 0.82 ve 0.80 oranlarıyla CPL, CFA, CBR, CGL ve CST gruplarının takip ettiği saptanmıştır.

Atık grubu silaj tozlarında da lösin, isolösin, teronin, methionin ve fenilalanin amino asitlerinin AFA grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak önemli derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Atık grubunda yer alan fermente silaj tozlarında isolösin, methionin ve tirozin amino asitlerinin en yüksek EPL grubunda olduğu saptanmıştır. AFA, APL, AAC, AST, ABR ve AGL grubu silaj tozlarının E/NE oranları sırasıyla 0.74, 0.71, 0.70, 0.60, 0.59 ve 0.54 olarak saptanmıştır. Araştırmada genel olarak bakteri gruplarda görülen düşük seviyelerin bu gruplarda yer alan mikroorganizmaların enzimatik faaliyetlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

E/NE oranı morinada 0.71 (Javeri ve ark., 1984), çipurada 0.77, uskumruda 0.77, kefalde 0.71, sardalyada 0.69 (Iwasaki ve Harada, 1985), levrekte ise 0.75 – 0.77 (Özyurt ve Polat, 2006) oranlarında belirlenmiştir. Buna göre bu araştırmada elde edilen E/NE oranlarına bakıldığında, genel olarak silaj tozlarının dengeli ve yüksek kaliteli bir protein kaynağı olduğu görülmektedir. Silaj tozları arasında bu açıdan en iyi grupların sırası farklı olsa da her üç grupta da formik asit, *Lb. plantarum* ve *Pd. Acidilactici* ile hazırlanan silaj gruplarından elde edildiği saptanmıştır.

4.8.2. Toplam Antioksidan ve DPPH

Projede silaj tozlarında yapılması planlanan invitro antioksidan aktivite testlerinden “toplam antioksidan aktivitesi” ve “DPPH (Diphenyl picrylhydrazyl) radikal tutma kapasitesi” sonuçları aşağıda görülmektedir (Tablo 26).

Tablo 26. Silaj tozlarının toplam antioksidan aktivite (TAA) ve Diphenyl picrylhydrazyl radikal tutma kapasite (DPPH) değerleri.

	TAA (mg AA/g)	DPPH (%)
EFA	2.59±0.07 ^b	6.14±1.02 ^a
ELP	2.72±0.01 ^{bc}	7.49±2.99 ^a
EAC	2.94±0.06 ^d	10.26±0.59 ^b
EGL	3.89±0.14 ^e	14.71±0.01 ^c
EBR	2.34±0.00 ^a	7.25±0.17 ^a
EST	2.81±0.02 ^{cd}	7.72±0.75 ^a
CFA	2.78±0.01 ^c	6.99±0.16 ^a
CLP	2.17±0.03 ^a	7.48±1.85 ^a
CAC	3.04±0.08 ^d	13.36±0.86 ^c
CGL	2.83±0.04 ^c	7.76±1.10 ^a
CBR	2.40±0.01 ^b	7.11±1.47 ^a
CST	2.39±0.02 ^b	10.31±0.64 ^b
AFA	2.86±0.02 ^f	7.55±0.20 ^a
ALP	2.26±0.03 ^b	8.42±0.05 ^a
AAC	2.71±0.01 ^e	20.26±0.79 ^c
AGL	2.44±0.03 ^c	16.95±0.13 ^b
ABR	2.58±0.05 ^d	7.89±0.45 ^a
AST	1.92±0.01 ^a	7.87±0.46 ^a

EFA: *Equulites klunzingeri* Formik Asit; EPL: *Equulites klunzingeri Lb. plantarum*; EAC: *Equulites klunzingeri Pd. acidilactici*; EGL: *Equulites klunzingeri Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri Streptococcus spp* CFA: *Caracius gibelio* Formik Asit; CPL: *Caracius gibelio Lb. plantarum*; CAC: *Caracius gibelio Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius gibelio Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius gibelio Lb. brevis* CST: *Caracius gibelio Streptococcus spp* AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent.gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus spp*

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-d) aynı ham materyalden yapılmış silaj grupları arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Fosfomolibdenyum yöntemi olarak ta bilinen toplam antioksidan aktivite (TAA) testi gıdaların antioksidan aktivitelerini değerlendirmede kullanılan kalitatif bir yöntemdir. Bu yöntemle göre *Equulites* grubunda yer alan asit ve fermente silaj tozlarının TAA değerleri 2.34-2.94 mg AA/g, *Caracius* grubu silaj tozlarının 2.17-3.04 mg AA/g ve atık grubu silaj tozlarının 1.92-2.86 mg AA/g olduğu belirlenmiştir. *Equulites* grubunda en yüksek TAA *Ent.gallinarum* ile hazırlanan grupta (EGL), *Caracius* grubu silaj tozları içerisinde *Pd. acidilactici* ile hazırlanan silaj grubunda (CAC) ve atık grubu içerisinde en yüksek TAA formik asitle hazırlanan silaj grubunda (AFA) bulunmuştur (p<0.05). Bu açıdan gruplar arasında bir homojenlik görülemez. Araştırmada elde ettiğimiz TAA verilerine benzer şekilde Umayaparvathi ve ark. (2014) istiridye (*Saccostrea cucullata*) protein hidrolizatlarından izole ettikleri bioaktif peptidlerin toplam antioksidan içeriğinin 2.1 mg AA/g olduğunu belirtmişlerdir.

DPPH ethanolde 517 nm'de maksimum absorbans veren serbest bir radikaldir. DPPH antioksidan gibi proton verici bir madde ile karşılaştığı zaman radikal tutulacak ve absorbans azalacaktır (Shimada ve ark., 1992). Bu prensibe dayanarak gerçekleştirilen bu analizde silaj

tozlarının antioksidan kapasiteleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *Equulites* grubunda en yüksek DPPH inhibisyon oranı EGL (%14.71) ve EAC (10.26) gruplarında, *Caracius* grubu silaj tozları içinde CAC (%13.36) ve atık grubu silaj tozları içerisinde AAC (20.26) ve AGL (16.95) gruplarında olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). Bununla birlikte tüm gruplarda en düşük DPPH inhibisyon oranları formik asit ile hazırlanan silaj gruplarında (EFA, CFA ve AFA) görülmesine rağmen bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Sheriff ve ark (2014) pepsin ve papain kullanarak Hindistan uskumru atıklarından ürettikleri protein hidrolizatlarında DPPH inhibisyon oranının %36 – %46 olduğunu belirtmişlerdir. Samar ve ark. (2013) mikrodalga tekniği ile karides atıklarından ekstrakte ettikleri kitosanların aynı konsantrasyonda DPPH inhibisyon oranlarını %16.14 – 32.76 (ortalama %23.68) oranlarında olduğunu rapor etmişlerdir. Bellaj ve ark., (2012) su ürünleri atığı hidrolizatlarında yer alan peptidlerin elektron vererek serbest radikallerle reaksiyona girebilecekleri ve böylece daha kararlı ürünlere dönüşebileceklerini ifade etmişlerdir. Projede elde edilen tüm bu verilere göre asit ve fermente silaj tozlarının antioksidan içeriğe sahip değerli bir yem kaynağı olduğu söylenebilir.

4.8.3. Silaj Tozlarının Antimikrobiyal Aktivite Değerlendirmesi

Projede elde edilen balık silajı tozlarının antimikrobiyal aktivitesini belirleyebilmek için “disk difüzyon yöntemi” ve “minimum inhibisyon konsantrasyonu” değerlendirmeleri yapılmıştır. Bu amaçla, çalışmada 8 farklı gıda kaynaklı patojen (*Salmonella Paratyphi A*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli*, *Enterococcus faecalis*, *Campylobacter jejuni* ve *Yersinia enterocolitica*) üzerine toz silajların disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Test edilen silaj örnekleri patojen bakteriler üzerinde herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmadığı gözlenmiştir (Resim 30).



Resim 30. Balık silajı tozlarının ve antibiyotik disklerin patojen bakteri üzerindeki antimikrobiyal etkisi.

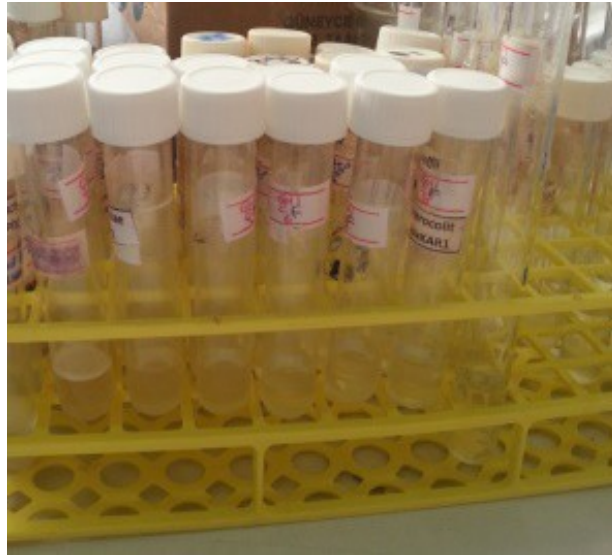


Resim 31. Antibiyotik disklerin (tetracycline) patojen bakteri üzerindeki (*E. coli*) antimikrobiyal etkisinin değerlendirilmesi.

Resim 30 pozitif kontrol antibiyotik (Tetracycline ve Neomycine) diskler ile toz silajın nüfuz ettirildiği disklerin (alttaki petri kutusu) karşılaştırılmasını göstermektedir. Tetracycline, *Staph. aureus*, *C. jejuni*, *S. Paratyphi A*, *K. pneumoniae*, *Y. enterocolitica*, *E.coli*, *Ent. faecalis* ve *P. aeruginosa* üzerinde sırasıyla 2.0, 2.6, 1.8, 2.2, 2.4, 2.0, 2.5 ve 2.1 mm inhibisyon zonu oluştururken, neomycine sırasıyla 2.1, 2.0, 1.5, 1.8, 1.9, 1.7, 2.0 ve 1.9 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur (Resim 31).

Silaj örneklerinde disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal aktivite belirlenememesine rağmen, kullanılan bakteriler üzerinde minimum inhibitör konsantrasyonu (MIK) aktivitesi analizi yine de gerçekleştirilmiştir.

Disk difüzyon yönteminde olduğu gibi, çalışmada silajların hiçbir grubunda antimikrobiyal aktivite gözlenmemiştir. Resim 32 mikrodilüsyon yöntemiyle test edilen bakteriyel gelişimleri göstermektedir. 50 mg/ml düzeyindeki silaj örneklerinde tüm bakteriler gelişim sergilemiştir. Bu durum kullanılan konsantrasyonda silaj örneklerinin hiçbir antimikrobiyal aktivite sergilemediğini göstermektedir.



Resim 32. İşleme atığı silaj tozlarına uygulanan test tüplerindeki bakteriyel gelişimler.

4.8.4. Balık Silajı Tozlarında Biyojen Amin ve TMA Üretimi

E. klunzingeri, *C. gibelio* ve işleme atığı grubu silaj tozlarında biyojen amin ve TMA üretimi sırasıyla Tablo 27-29'da verilmiştir. Balık silajları histamin, tiramin, putresin ve kadaverin üretiminden sorumlu önemli miktarda serbest amioasit içermektedir (Haard ve akr., 1985). Biyojenik aminler hayvanlar için toksik bileşikler olduğu için balık silajında potansiyel bir risk oluşturmaktadır (Dapkevicius ve ark., 2000). Silaj tozları yaş silajlara kıyasla oldukça düşük düzeyde biyojenik amin ve TMA içermiştir. Silaj tozları kıyaslandığında *E. klunzingeri*'den elde edilen silaj tozları genelde daha yüksek düzeyde biyojenik amin ve TMA içermiştir. Silaj tozlarında TMA yanında, kadaverin, putresin ve tiramin bulunan başlıca biyojen aminler olmuştur. Putresin *E. klunzingeri* silajında 1.71 mg/100 g'dan (EGL) 4.06 mg/100 g'a (EST) değişkenlik gösterirken, *C.gibelio grubu* silaj tozlarında tüm gruplarda 0.6 mg/100 g'ın altında kalmıştır. *E. klunzingeri* grubu silaj tozlarında *Pd. acidilactici* (EAC) en yüksek düzeyde (11.30 mg/100 g) kadaverin üretirken, diğer silaj tozları 0.3 mg/100 g kadaverin üretmiştir. Spermidin, triptamin ve spermin bütün silaj tozu örneklerinde 0.2 mg/100 g'ın altında olmuştur.

E. klunzingeri ve *C.gibelio* silaj tozlarında histamin tespit edilemezken, işleme atığında sadece *Ent. gallinarum* (AGL), *Lb. brevis* (ABR) ve *Lb. plantarum* (APL) grubunda 0.05 mg/100 g olarak çok düşük düzeyde histamin bulunmuştur. Tiramin hayvanlarda önemli bir mutajenik ön-madde olarak tanımlanmıştır (Ochiai ve ark., 1984). Tiramin bütün gruplarda 2 mg/100 g'ın altında bulunmuştur. *C. gibelio* silaj tozu en düşük tiramin içeriğine (<0.75 mg/100 g) sahip grup olmuştur. *E. klunzingeri* silaj tozlarında TMA 6.00 mg/100g (EBR) ve 14.07 mg/100 g (EAC) arasında değişkenlik gösterirken, diğer silaj grupları 5 mg/100 g'ın altında TMA içermiştir. En yüksek dopamin ve agmatin düzeyi sırasıyla 1.24 mg/100 g ve 0.78 mg/100 g değeri ile EST grubunda bulunmuştur.

Tablo 27. *E. klunzingeri* toz silajında biyojen amin üretimi

<i>E. klunzingeri</i> Toz Silajı	PUT	KAD	SPD	TRP	FEN	SPN	HIS	SER	TİR	TMA	DOP	AGM
EFA	1.94±0.20 ^{cd}	3.45±0.31 ^d	0.13±0.00 ^a	0.00±0.01 ^c	0.16±0.01 ^d	0.11±0.01 ^a	0.00±0.00	0.02±0.00 ^f	0.07±0.01 ^e	8.03±0.26c	0.15±0.01c	0.05±0.00c
EST	4.06±0.26 ^a	8.30±0.44 ^b	0.10±0.01 ^b	0.03±0.00 ^b	0.22±0.02 ^c	0.06±0.00 ^b	0.00±0.00	0.15±0.01 ^c	1.38±0.10 ^c	6.14±0.54de	1.24±0.08a	0.78±0.07a
EPL	3.39±0.28 ^b	5.88±0.20 ^c	0.10±0.00 ^b	0.02±0.00 ^b	0.21±0.01 ^c	0.06±0.00 ^b	0.00±0.00	0.18±0.02 ^b	1.41±0.14 ^c	7.01±0.53d	0.34±0.03b	0.11±0.01b
EGL	1.71±0.10 ^d	6.43±0.08 ^c	0.05±0.00 ^d	0.02±0.00 ^b	0.31±0.01 ^b	0.01±0.00 ^d	0.00±0.00	0.26±0.01 ^a	1.90±0.05 ^a	9.88±0.42b	0.13±0.01c	0.06±0.00b c
EBR	3.26±0.32 ^b	5.77±0.29 ^c	0.08±0.01 ^c	0.02±0.00 ^b	0.17±0.01 ^d	0.03±0.00 ^c	0.00±0.00	0.11±0.01 ^d	0.99±0.09 ^d	6.00±0.38e	0.10±0.00c	0.08±0.00b c
EAC	2.24±0.19 ^c	11.30±0.58 ^a	0.07±0.00 ^c	0.10±0.01 ^a	0.47±0.03 ^a	0.02±0.00 ^c	0.00±0.00	0.05±0.00 ^e	1.68±0.04 b	14.07±0.70a	0.12±0.01c	0.03±0.00c

PUT: Putrescin, KAD: Kadaverin, SPD: Spermidin, TRP:Triptamin, FEN: Feniletilamin, SPN: Spermin, HIS: Histamin, SER: Serotonin, TYR: Tiramin, TMA: Trimetilamin , DA: Dopamin, AGM: Agmatin.

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-f) silaj yapımına bağlı gözlenen istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Tablo 28. *C. gibelio* toz silajında biyojen amin üretimi

<i>C. gibelio</i> Toz Silajı	PUT	KAD	SPD	TRP	FEN	SPN	HIS	SER	TİR	TMA	DOP	AGM
CFA	0.32±0.01c	0.09±0.00 d	0.18±0.01bc	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.10±0.01 b	0.00±0.00	0.15±0.01 a	0.03±0.00f	1.19±0.04 e	0.17±0.01d	0.01±0.00e
CST	0.40±0.03b	0.14±0.01c	0.20±0.01a	0.07±0.01 a	0.00±0.00c	0.16±0.01 a	0.00±0.00	0.13±0.00 b	0.56±0.04b	4.29±0.14 a	0.40±0.01a	0.13±0.00a
CPL	0.37±0.03b	0.29±0.02 a	0.17±0.01c	0.07±0.00 a	0.00±0.00c	0.10±0.00 b	0.00±0.00	0.08±0.01c	0.13±0.00e	2.52±0.06 b	0.12±0.01e	0.08±0.00b
CGL	0.41±0.02b	0.22±0.02 b	0.16±0.00c	0.07±0.00 a	0.02±0.00b	0.10±0.01 b	0.00±0.00	0.04±0.00 d	0.27±0.02c	1.82±0.10 d	0.28±0.02b	0.04±0.00d
CBR	0.32±0.03c	0.21±0.02 b	0.13±0.02d	0.03±0.00 b	0.00±0.00c	0.07±0.00c	0.00±0.00	0.04±0.00 d	0.22±0.02d	1.78±0.08 d	0.12±0.01e	0.05±0.00d
CAC	0.54±0.02a	0.23±0.02 b	0.19±0.01ab	0.08±0.00 a	0.07±0.01a	0.16±0.01 a	0.00±0.00	0.07±0.00c	0.75±0.05a	2.18±0.11c	0.25±0.01c	0.06±0.00c

PUT: Putrescin, KAD: Kadaverin, SPD: Spermidin, TRP:Triptamin, FEN: Feniletilamin, SPN: Spermin, HIS: Histamin, SER: Serotonin, TYR: Tiramin, TMA: Trimetilamin , DA: Dopamin, AGM: Agmatin.

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-f) silaj yapımına bağlı gözlenen istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).
Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Tablo 29. İşleme atığı toz silajında biyojen amin üretimi

İşleme Atığı Toz Silajı	PUT	KAD	SPD	TRP	FEN	SPN	HIS	SER	TİR	TMA	DOP	AGM
AFA	0.37±0.03e	0.10±0.01 d	0.14±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00c	0.10±0.01 a	0.00±0.00 d	0.13±0.01c	0.13±0.01 d	2.52±0.12b	0.15±0.01 b	0.03±0.00a
AST	0.59±0.06d	0.21±0.01 a	0.11±0.01b	0.03±0.01a	0.04±0.00 a	0.07±0.00 b	0.00±0.00 d	0.08±0.00 d	1.39±0.04 a	1.48±0.09de	0.09±0.00 d	0.03±0.00a
APL	2.56±0.19a	0.18±0.01 b	0.09±0.00c	0.05±0.04a	0.00±0.00c	0.05±0.00 d	0.02±0.00c	0.13±0.01c	0.33±0.03c	1.53±0.08d	0.12±0.00 c	0.04±0.00a
AGL	0.91±0.06c	0.10±0.01 d	0.11±0.01b	0.00±0.00a	0.00±0.00c	0.05±0.00 d	0.04±0.00 a	0.12±0.00c	0.04±0.00 d	1.28±0.03e	0.09±0.00 d	0.01±0.00b
ABR	0.51±0.02de	0.16±0.01c	0.10±0.00b c	0.02±0.00a	0.00±0.00c	0.08±0.00 b	0.03±0.00 b	0.20±0.01 b	0.10±0.00 d	2.89±0.19a	0.16±0.01 b	0.03±0.00a
AAC	1.11±0.05b	0.22±0.00 a	0.10±0.01b c	0.05±0.07a	0.01±0.00 b	0.06±0.00c	0.00±0.00 d	0.22±0.02 a	1.16±0.12 b	1.98±0.10c	0.21±0.01 a	0.03±0.00a

PUT: Putrescin, KAD: Kadaverin, SPD: Spermidin, TRP: Triptamin, FEN: Feniletamin, SPN: Spermin, HIS: Histamin, SER: Serotonin, TYR: Tiramin, TMA: Trimetilamin, DA: Dopamin, AGM: Agmatin.

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-f) silaj yapımına bağlı gözlenen istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).
Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

4.8.5. Silaj Tozlarında Organik Asit Üretimi

Organik asitler gıdanın tadı, kokusu, lezzeti kısaca yenilebilirliği açısından önemli bileşiklerdir. Laktik, asetik, fumarik, propiyonik ve süksinik gibi organik asitler birçok gıdanın doğal bileşenleridir. Bu asitler arasında, asetik ve propiyonik asit en güçlü inhibitör olup maya, küf ve bakterilerin üremesinin engellemesi için kullanılır (Suomalainen ve Mayra-Makinen, 1999). Organik asitlerin hayvanların sindirim sistemindeki faaliyet modu tam olarak bilinmemektedir. Ancak aktivitelerinin çözücü özellikleri ve pH düşürme yetenekleri ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Skrivanova ve ark., 2006)

Tablo 30-32 balık silajı tozlarındaki organik asit düzeyini göstermektedir. Asit silaj tozlarında süksinik asit en düşük düzeyde bulunan organik asit iken, diğer test edilen asitler oldukça yüksek düzeylerde bulunmuştur. Formik ve propiyonik asit mikrobiyal bozulmanın engellenmesi amacıyla yemlerde koruyucu olarak kullanıldığı bilinmektedir (Skrivanova ve ark., 2006). EFA, CFA ve AFA gruplarının formik asit düzeyleri sırasıyla 890.12, 1611.37 ve 1005.90 mg/100 g olmuştur. *E. klunzingeri* asit silajına (EFA) kıyasla işleme atığı (4259.58 mg/100 g, AFA) ve *C. gibelio* (4259.58 mg/100 g, CFA) silajı oldukça yüksek düzeyde laktik asit içermiştir. Asit silaj tozlarının asetik asit düzeyleri ise 1006.82 mg/100 g (işleme atığı) ve 2030.62 mg/ 100 g (*E. klunzingeri*) arasında değişkenlik göstermiştir. *C. gibelio* asit silajı (CFA) en düşük propiyonik asit içeriğine sahip grup olurken (987.44 mg/100g), *E. klunzingeri* (EFA) ve işleme atığı asit silajlarında (AFA) bu değer sırasıyla 1595.92 mg/100 g ve 4928.54 mg/100 g olarak bulunmuştur.

Tablo 30. Toz *E. klunzingeri* silajında organik asit üretimi (mg/100g).

	Formik asit	Laktik asit	Asetik asit	Süksinik asit	Propiyonik asit
EFA	890.12±1.08	1426.59±13.99	2030.62±31.62	750.88±46.49	1595.92±30.25
EPL	301.32±2.57 ^c	3975.00±64.29 ^c	1602.10±19.60 ^b	66.85±3.16 ^b	1247.41±27.50 ^b
EAC	26.51±1.98 ^a	3755.22±143.65 ^b	1408.05±42.66 ^a	346.46±10.48 ^c	2063.86±89.28 ^d
ELG	253.99±13.91 ^b	3647.40±79.28 ^b	1359.12±36.85 ^a	454.29±16.11 ^d	2605.53±138.81 ^e
EBR	27.71±0.70 ^a	3805.97±71.29 ^{bc}	1579.27±114.73 ^b	38.80±2.11 ^a	1530.73±27.41 ^c
EST	18.59±0.81 ^a	3431.80±99.60 ^a	1564.00±24.81 ^b	479.69±21.48 ^e	411.78±0.55 ^a

EFA: *Equulites klunzingeri* Formik Asit; EPL: *Equulites klunzingeri* *Lb. plantarum*; EAC: *Equulites klunzingeri* *Pd. acidilactici*; EGL: *Equulites klunzingeri* *Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri* *Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri* *Streptococcus* spp Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-e) fermente silaj grupları arasında gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Tablo 31. Toz *C. gibelio* silajında organik asit üretimi (mg/100g).

	Formik asit	Laktik asit	Asetik asit	Süksinik asit	Propiyonik asit
CFA	1611.37±119.25	3958.32±50.35	1917.20±50.12	141.74±5.33	987.44±84.79
CPL	0.00±0.00	5363.48±83.14 ^c	1939.35±116.34 ^c	134.13±9.27 ^d	6335.40±157.98 ^d
CAC	0.00±0.00	4705.52±196.59 ^b	1417.19±65.34 ^a	96.95±8.11 ^c	4421.03±116.73 ^{bc}
CGL	0.00±0.00	4259.89±77.10 ^a	1361.89±54.27 ^a	55.53±0.81 ^a	4311.11±154.52 ^b
CBR	8.76±0.46	6003.48±131.11 ^d	1606.32±39.93 ^b	82.41±3.71 ^b	3397.95±160.78 ^a
CST	0.00±0.00	4192.19±50.53 ^a	1580.17±26.41 ^b	75.12±4.58 ^b	4569.54±63.80 ^c

CFA: *Caracius gibelio* Formik Asit; CPL: *Caracius gibelio* *Lb. plantarum*; CAC: *Caracius gibelio* *Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius gibelio* *Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius gibelio* *Lb. brevis* CST: *Caracius gibelio* *Streptococcus* spp

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-e) fermente silaj grupları arasında gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Tablo 32. Toz işleme atığı silajında organik asit üretimi (mg/100g).

	Formik asit	Laktik asit	Asetik asit	Süksinik asit	Propiyonik asit
AFA	1005.90±22.75	4259.58±61.93	1006.82±20.38	37.38±1.61	4928.54±88.20
APL	21.98±0.87 ^a	4218.92±24.03 ^d	1370.63±35.40 ^b	18.15±0.94 ^{ab}	4292.87±89.12 ^c
AAC	317.61±14.80 ^d	3780.18±16.50 ^b	1587.63±5.09 ^c	12.80±1.41 ^a	474.66±24.33 ^a
AGL	321.44±10.49 ^d	3987.31±77.38 ^c	1574.57±14.14 ^c	308.51±3.93 ^c	5464.99±96.47 ^d
ATS	290.46±7.26 ^c	4036.68±99.09 ^c	1833.95±20.18 ^d	25.93±0.83 ^b	3779.11±41.57 ^b
ABR	217.81±4.02 ^b	3259.16±45.33 ^a	1289.77±17.11 ^a	465.77±12.97 ^d	5421.72±19.83 ^d

AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent. gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus* spp

Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-d) fermente silaj grupları arasında gözlenen istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (p < 0.05).

Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Fermentasyonun başlangıç aşamasında *Leunostoc mesenteroides* ve *Lb. plantarum*'un glukozdan laktik asit ürettiği, glukoz tüketiminden sonra ise laktik asit yerine asetik asit ürettiği rapor edilmiştir (Wagner ve ark., 2005; Goffin ve ark., 2006). Fermente silaj tozlarında laktik asit, propiyonik asit ve asetik asit başlıca üretilen organik asitler olmuştur. Fermente silaj tozlarında formik asit en yüksek atık silaj tozlarında (21-322 mg/100g) tespit edilirken, *C. gibelio* silaj tozlarında formik asit üretimi sadece *Lb. brevis* grubunda (8.76 mg/100g, CBR) gözlenmiştir. Fermente silaj tozlarında laktik asit üretimi 3200 mg/100'in üzerinde olmuştur. Laktik asit fermente silaj tozları arasında en yüksek CBR (6003.48 mg/100g) ve CPL (5363 mg/100g) gruplarında gözlenmiştir. Asetik asit üretimi tüm silaj tozlarında 1280-1940 mg/100 g arasında değişkenlik göstermiştir. En yüksek asetik asit üretimi CST grubunda gözlenmiştir. Test edilen balık silajı tozlarında *Pd. acidilactici* (CAC) ve *Ent. gallinarum* (CGL) grupları arasında asetik asit üretimi bakımından önemli farklılıklar gözlenmemiştir. Süksinik asit silaj tozlarında en düşük düzeyde üretilen organik asit olmuştur. Fermente silaj tozları arasında süksinik asit üretimi bakımından önemli farklılıklar gözlenmiş olup, en düşük ve en yüksek süksinik asit üretimi sırasıyla işleme atığı ve *E. klunzingeri* silajında *Pd. acidilactici* (EPL, 12.80 mg/100 g) ve *Streptococcus* spp. (EST, 479.69 mg/100

g) grubunda tespit edilmiştir. Propiyonik asit fermente silaj tozlarında üretilen ana organik asitlerden birisi olmuş ve en düşük *E. klunzingeri* silajında birikime uğramıştır. Fermente silaj tozlarında en düşük propiyonik asit birikimi *E. klunzingeri* ve işleme atığı silajında sırasıyla EST (411.78 mg/100 g) ve EAC (474.66 mg/100 g) grubunda gözlenirken, *C. gibelio* silajında CBR en yüksek propiyonik asit üreten (6335.40 mg/100g) grup olmuştur. *Ent. gallinarum* ise işleme atığı (AGL, 5464.99) ve *E. klunzingeri* (EGL, 2605.53 mg/100g) silajında en yüksek propiyonik asit içeriğine sahip grup olmuştur.

4.8.6. Balık silajı tozlarının in-vitro sindirilebilirlik değerlendirilmeleri

Equulites klunzingeri, *Caracius gibelio* ve atık silaj tozlarına ait gaz üretim miktarları ve gaz üretim parametreleri Tablo 33-35 ve Şekil 11-13'de verilmiştir. Resim 33'da araştırmada kullanılan in-vitro gaz üretim düzeneğinin görüntüsü görülmektedir.





Resim 33. İn vitro gaz üretim düzeneğinin görüntüsü.

Araştırmada, her üç grupta yer alan balık silajı tozları arasında gaz üretimleri ($P<0.05$) ve OMS, ME ve NEL içerikleri ($P<0.01$) bakımından önemli düzeyde farklılıklar saptanmıştır. Denemede kullanılan balık silajı tozları açısından her bir grup kendi içerisinde incelenmiştir. Atık grubu silaj tozları arasında OMS, ME ve NEL en fazla AAC grubunda (değerleri sırasıyla %87.76, 10.12 MJ/kg KM, 8.13 MJ/kg KM), *Equulites* grubu silaj tozlarında ise formik asitle hazırlanan EFA grubunun en fazla olduğu (%80.08, 8.65 MJ/kg KM, 7.49 MJ/kg KM) ve *Caracius gibelio* grubu silaj tozlarına bakıldığında *Lb. plantarum* ile hazırlanan CPL grubunda (%86.62, 9.60 MJ/kg KM, 8.80 MJ/kg KM) diğerlerine göre daha fazla elde edilmiştir (Tablo 35).

Tablo 33: Balık silajı tozlarının *in vitro* gaz üretimleri.

Inkübasyon (saat)		3.00	6.00	9.00	12.00	24.00	48.00	72.00	96.00
<i>Equulites</i>	EFA	11,02 ^a ±0,49	31,92 ^a ±1,01	38,83 ^a ±0,99	41,52 ^a ±1,80	46,23 ^a ±2,09	50,94 ^a ±0,95	52,13 ^a ±1,15	54,66 ^a ±0,58
	EPL	5,98 ^{bc} ±0,61	23,01 ^{bc} ±0,57	28,50 ^{cd} ±1,10	31,58 ^c ±0,81	37,77 ^c ±1,41	50,34 ^a ±1,43	51,36 ^{ab} ±1,43	52,45 ^{ab} ±1,43
	EA	7,73 ^b ±0,09	24,21 ^b ±0,73	32,16 ^b ±0,78	36,82 ^b ±0,67	43,85 ^a ±1,01	47,64 ^a ±1,94	48,46 ^b ±2,08	50,08 ^b ±1,63
<i>klunzingeri</i>	C	5,41 ^c ±2,22	21,10 ^{cd} ±2,90	30,02 ^{bc} ±1,86	35,27 ^a ±0,99	45,08 ^a ±0,58	48,89 ^a ±0,57	49,90 ^{ab} ±1,07	51,90 ^{ab} ±0,90
	EGL	6,83 ^{bc} ±1,42	22,41 ^{bc} ±1,23	26,23 ^a ±1,05	28,54 ^a ±1,23	31,79 ^a ±1,25	35,76 ^b ±1,02	37,30 ^a ±1,29	38,74 ^a ±1,29
	EB	4,68 ^c ±0,28	19,39 ^a ±1,13	23,39 ^a ±1,73	25,89 ^a ±2,03	31,85 ^a ±3,41	37,82 ^b ±3,48	39,92 ^c ±3,37	41,37 ^c ±3,05
<i>Caracius gibelio</i>	R	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
	EST	16,09 ^a ±1,07	34,613 ^{bc} ±0,80	40,07 ^b ±1,08	43,12 ^b ±0,87	48,37 ^b ±1,10	52,34 ^b ±1,06	53,72 ^c ±1,13	56,25 ^{ab} ±1,36
	Sig	17,40 ^a ±0,79	37,27 ^a ±0,45	43,65 ^a ±0,45	47,44 ^a ±0,76	52,15 ^a ±0,64	55,06 ^{ab} ±0,88	56,62 ^a ±0,88	58,80 ^b ±1,70
<i>Caracius gibelio</i>	CA	14,97 ^a ±0,93	34,40 ^c ±1,14	41,28 ^{ab} ±1,58	45,43 ^{ab} ±0,72	50,66 ^{ab} ±1,25	54,09 ^{ab} ±2,02	56,19 ^{ab} ±1,49	57,63 ^{ab} ±2,09
	C	16,87 ^a ±0,72	36,37 ^{ab} ±1,18	42,86 ^{ab} ±1,00	47,33 ^a ±1,04	52,18 ^a ±1,07	55,60 ^a ±1,40	57,31 ^a ±1,67	59,11 ^a ±1,52
	CG								
	L								

	CB	16,85 ^a ±1,42	35,43 ^{bc} ±0,56	41,02 ^{ab} ±0,23	45,84 ^a ±0,28	50,50 ^{ab} ±1,31	52,66 ^b ±0,79	53,84 ^{bc} ±0,33	55,28 ^b ±0,36
	R								
	CST	15,77 ^a ±2,97	34,70 ^{bc} ±1,04	43,17 ^a ±3,17	46,74 ^a ±3,06	50,87 ^{ab} ±2,92	54,64 ^{ab} ±1,85	55,99 ^{abc} ±1,56	57,43 ^{ab} ±1,61
	Sig	.453	.012	.098	.027	.097	.083	.020	.071
	AFA	15,78 ^{ab} ±1,75	38,99 ^a ±0,16	46,56 ^a ±0,04	50,96 ^a ±1,82	55,16 ^a ±0,58	60,30 ^{ab} ±0,67	62,24 ^{ab} ±0,96	64,45 ^{ab} ±0,93
	APL	12,43 ^c ±1,39	33,76 ^c ±2,05	40,20 ^b ±2,42	45,67 ^b ±2,32	50,97 ^b ±2,30	55,37 ^c ±2,35	56,57 ^c ±2,61	58,58 ^d ±1,32
	AA	14,29 ^{bc} ±0,55	37,91 ^{ab} ±0,68	44,64 ^a ±0,55	49,87 ^a ±0,97	55,66 ^a ±0,45	60,93 ^a ±1,21	63,21 ^a ±1,51	65,56 ^a ±0,76
	C								
Atık	AG	17,99 ^a ±2,95	37,03 ^{ab} ±1,95	44,88 ^a ±2,11	49,95 ^a ±2,98	54,51 ^a ±1,99	59,07 ^{ab} ±1,16	61,18 ^{ab} ±1,14	63,00 ^{bc} ±0,55
	L								
	AB	13,12 ^{bc} ±0,66	35,30 ^{bc} ±1,08	44,08 ^a ±0,52	49,17 ^a ±0,51	54,83 ^a ±0,77	58,85 ^{ab} ±1,61	60,78 ^{ab} ±1,33	62,98 ^{bc} ±1,33
	R								
	AST	14,64 ^{bc} ±1,06	35,88 ^{bc} ±1,41	44,22 ^a ±0,96	49,26 ^a ±1,06	53,78 ^a ±1,20	57,94 ^{bc} ±1,57	59,86 ^b ±1,43	61,30 ^c ±1,85
	Sig	.014	.007	.003	.055	.018	.010	.004	.000

EFA: *Equulites klunzingeri* Formik Asit; EPL: *Equulites klunzingeri Lb. plantarum*; EAC: *Equulites klunzingeri Pd. acidilactici*; EGL: *Equulites klunzingeri Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri Streptococcus spp* CFA: *Caracius gibelio* Formik Asit; CPL: *Caracius gibelio Lb. plantarum*; CAC: *Caracius gibelio Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius gibelio Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius gibelio Lb. brevis* CST: *Caracius gibelio Streptococcus spp* AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent.gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus spp* Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-d) aynı ham materyalden yapılmış silaj tozları arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

Tablo 34. Balık silajı tozlarının *in vitro* gaz üretim parametreleri.

		a ml	b ml	c ml/saat	rsd
<i>Equulites klunzingeri</i>	EFA	-17,02 ^c ±2,29	68,12 ^a ±3,31	0,19 ^a ±0,01	3,07
	EPL	-1,29 ^a ±0,58	52,21 ^c ±1,60	0,08 ^e ±0,00	3,92
	EAC	-13,48 ^{bc} ±1,99	61,56 ^b ±0,74	0,15 ^b ±0,02	1,68
	EGL	-13,89 ^{bc} ±3,11	63,76 ^{ab} ±3,27	0,13 ^c ±0,01	1,44
	EBR	-11,20 ^b ±2,18	47,25 ^{cd} ±0,95	0,17 ^a ±0,01	2,63
	EST	-4,61 ^a ±1,74	43,67 ^d ±4,59	0,11 ^d ±0,01	2,94
	Sig	.000	.000	.000	
<i>Caracius gibelio</i>	CFA	-5,50 ^a ±2,38	58,43 ^c ±2,19	0,16 ^b ±0,01	2,83
	CPL	-10,73 ^{ab} ±2,41	66,46 ^{ab} ±1,37	0,19 ^a ±0,01	2,44
	CAC	-10,74 ^{ab} ±1,39	65,63 ^{ab} ±0,62	0,177 ^{ab} ±0,01	2,45
	CGL	-9,27 ^{ab} ±0,79	65,53 ^{ab} ±0,88	0,18 ^{ab} ±0,00	2,41
	CBR	-9,73 ^{ab} ±4,04	62,89 ^b ±4,45	0,19 ^a ±0,01	1,86
	CST	-13,40 ^b ±3,93	68,31 ^a ±3,00	0,19 ^a ±0,02	2,27
	Sig	.079	.006	.031	

Atık	AFA	-6,51 ^b ±5,36	77,21 ^a ±5,48	0,19 ^{ab} ±0,02	3,30
	APL	-4,86 ^b ±2,33	70,53 ^{bc} ±3,74	0,17 ^{ab} ±0,01	2,69
	AAC	-3,84 ^b ±3,02	75,59 ^{ab} ±2,02	0,17 ^b ±0,02	3,49
	AGL	-7,14 ^a ±1,35	67,05 ^c ±0,24	0,17 ^b ±0,01	2,65
	ABR	-7,95 ^b ±3,27	77,61 ^a ±2,15	0,18 ^{ab} ±0,01	2,66
	AST	-18,82 ^b ±2,94	76,36 ^a ±1,86	0,19 ^a ±0,01	2,49
	Sig	.011	.006	.094	

EFA: *Equulites klunzingeri* Formik Asit; EPL: *Equulites klunzingeri Lb. plantarum*; EAC: *Equulites klunzingeri Pd. acidilactici*; EGL: *Equulites klunzingeri Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri Streptococcus spp* CFA: *Caracius gibelio* Formik Asit; CPL: *Caracius gibelio Lb. plantarum*; CAC: *Caracius gibelio Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius gibelio Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius gibelio Lb. brevis* CST: *Caracius gibelio Streptococcus spp* AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent. gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus spp* Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-e) aynı ham materyalden yapılmış silaj tozları arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, n=3.

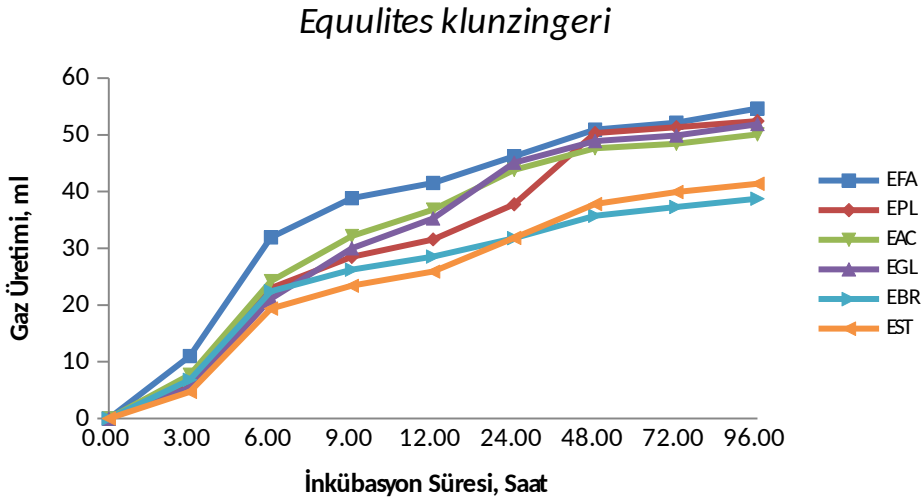
Tablo 35. Balık silajı tozlarının OMS, ME ve NEL içerikleri ile metotlar arasındaki etkileri.

		OMS %	ME MJ/kg KM	NEL MJ/kg KM
<i>Equulites klunzingeri</i>	EFA	80,08 ^a ±1,59	8,65 ^a ±0,48	7,49 ^a ±0,32
	EPL	74,4 ^b ±1,07	7,33 ^b ±0,05	6,86 ^b ±0,21
	EAC	78,99 ^a ±0,77	8,29 ^a ±0,09	7,35 ^a ±0,16
	EGL	78,93 ^a ±0,44	8,46 ^a ±0,56	7,36 ^a ±0,09
	EBR	69,74 ^c ±0,95	6,38 ^c ±0,02	6,45 ^c ±0,21
	EST	69,92 ^c ±2,59	6,39 ^c ±0,44	6,46 ^c ±0,53
	Sig	.000	.000	.000
	<i>Caracius gibelio</i>	CFA	81,18 ^d ±0,85	8,97 ^b ±0,17
CPL		86,62 ^a ±0,48	9,60 ^a ±0,10	8,08 ^a ±0,05
CAC		83,93 ^{bc} ±0,95	9,35 ^{ab} ±0,20	7,84 ^b ±0,10
CGL		85,93 ^{ab} ±0,81	9,61 ^a ±0,18	8,02 ^{ab} ±0,08
CBR		83,61 ^c ±0,99	9,34 ^{ab} ±0,20	7,91 ^{ab} ±0,10
CST		85,20 ^{abc} ±2,22	9,39 ^{ab} ±0,47	7,97 ^{ab} ±0,22
Sig		.001	.078	.005
Atık		AFA	86,17 ^{ab} ±0,44	10,02 ^a ±0,09
	APL	84,31 ^b ±1,75	9,38 ^b ±0,36	7,80 ^b ±0,17
	AAC	87,76 ^a ±0,34	10,12 ^a ±0,07	8,13 ^a ±0,03
	AGL	86,76 ^a ±1,51	9,94 ^a ±0,31	8,05 ^a ±0,15
	ABR	85,99 ^{ab} ±0,59	9,98 ^a ±0,12	8,03 ^a ±0,06
	AST	86,50 ^a ±0,91	9,83 ^a ±0,19	8,05 ^a ±0,09
	Sig	.038	.020	.038

EFA: *Equulites klunzingeri* Formik Asit; EPL: *Equulites klunzingeri Lb. plantarum*; EAC: *Equulites klunzingeri Pd. acidilactici*; EGL: *Equulites klunzingeri Ent. gallinarum*; EBR: *Equulites klunzingeri Lb. brevis* EST: *Equulites klunzingeri Streptococcus spp* CFA: *Caracius gibelio* Formik Asit; CPL: *Caracius gibelio Lb. plantarum*; CAC: *Caracius gibelio Pd. acidilactici*; CGL: *Caracius gibelio Ent. gallinarum*; CBR: *Caracius gibelio Lb. brevis* CST: *Caracius gibelio Streptococcus spp*

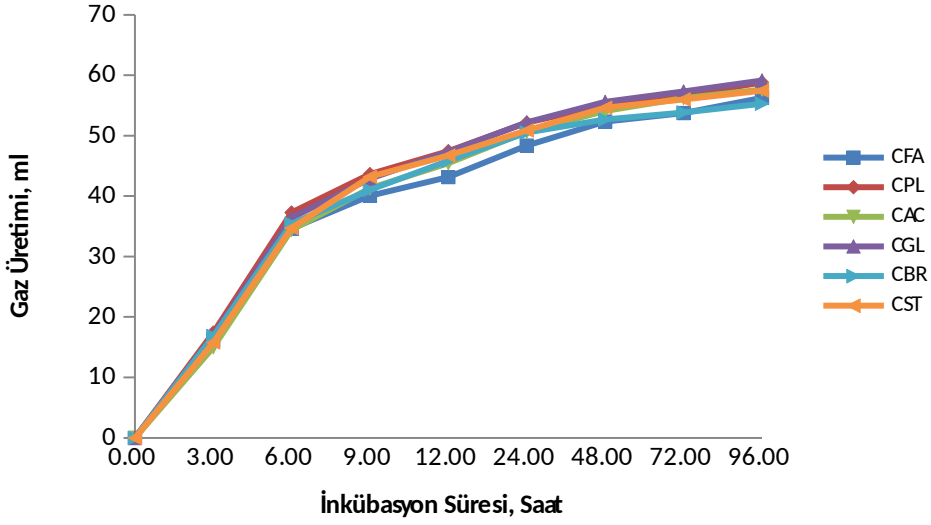
AFA: Atık Formik Asit; APL: Atık *Lb. plantarum*; AAC: Atık *Pd. acidilactici*; AGL: Atık *Ent.gallinarum*; ABR: Atık *Lb. brevis* AST: Atık *Streptococcus* spp
Aynı sütunda yer alan farklı harfler (a-c) aynı ham materyalden yapılmış silaj tozları arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$). Değerler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir, $n=3$.

Zamana bağlı gaz üretim miktarları Şekil 11, 12 ve 13'de görüldüğü gibi besin madde içeriklerine bağlı olarak değişmektedir. Benzer olarak gaz üretimi ile ilgili yapılan yüksek ham protein içerikli ayçiçeği tohumu küspelerinde (ATK1), düşük ham protein içerikli olanlara (ATK2) kıyasla daha yüksek değerler gösterdiği belirtilmiştir (Kılıç ve Boğa, 2009). Kılıç ve ark., (2008) balık unu ile yaptıkları bir araştırmada ortalama ME 3,67 MJ/kg, OMS ise 59,50 elde ettiklerini belirtmişlerdir, bu projede silaj grupları arasında farklıklar gözlenmekle birlikte genel olarak tüm grupların balık ununa göre daha yüksek sindirilebilirliğe sahip olduğu saptanmıştır. Bu durumun balık silajı tozlarının kurutulması aşamasında kurutmaya yardımcı olması için eklenen ve bir karbonhidrat kaynağı olan maltodekstrin'den kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Buna göre, projede geliştirilen bu yöntemle hazırlanan balık silajı tozlarının çiftlik hayvanları beslemesi için balık ununa göre daha uygun olduğu da söylenebilir.



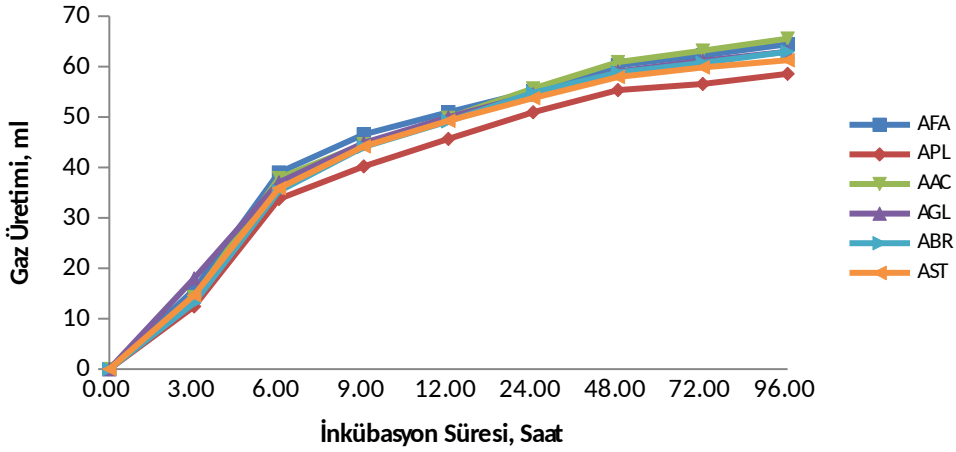
Şekil 11. *Equulites klunzingeri* grubu silaj tozlarının gaz üretim değerleri.

Caracius gibelio



Şekil 12: *Caracius gibelio* grubu silaj tozlarının gaz üretim değerleri.

Atık



Şekil 13. Atık grubu silaj tozlarının gaz üretim değerleri.

Balık silajı tozlarının HP değerlerinin yüksek olması nedeniyle hayvan beslemede kullanılabilirliği açısından önemli bir yem hammaddesi olarak görülmektedir. Hayvanın sadece gelişmesi açısından değil rumen mikrobiyal faaliyetlerinin optimum olarak gerçekleşmesi için de gerekli olan HP oranının yemlerde en az %10 düzeyinde bulunması gereklidir (Norton, 2003). Bu nedenle HP içeriğinin %10 sınırının altında olması mikrobiyal

aktiviteyi azaltacak, dolayısıyla gaz üretiminde de azalmalara yol açabilecektir (Kılıç ve Boğa, 2009). Çalışmamızda kullanılan yemler HP içeriğince zengin oldukları için hayvan besleme açısından önemli bir kaynak olarak görülmektedir.

Araştırmada, *Equulites klunzingeri*, *Caracius gibelio* ve atık silaj gruplarında yer alan asit ve fermente balık silajı tozları arasında bazı farklılıklar olduğu belirtilmiştir. Genel olarak hayvan yemlerinde gözlenen bu farklılıkların besin madde içeriğinden kaynaklanması yanında, yemlerin yetiştiği bölgelerin iklimi, toprak yapısı, yetiştirme teknikleri, gübreleme, çeşit farklılıkları, hasat zamanı, yemlere uygulanan işlemler, yemlerin saklanma koşulları v.b. bir çok faktörden de ileri geldiği söylenebilir (Kutlu ve Çelik, 2005). Benzer olarak balık silajı tozları arasında gözlenen farklılıkların silajların hazırlanmasında kullanılan bakterilerin farklı enzimallere sahip olmaları ve buna bağlı olarak gelişen üründe farklılıklar gözlenebileceği düşünülebilir. Aynı zamanda düşük gaz üretimi ile ilgili olarak yapılan farklı çalışmalarda benzer görüşler belirtilmektedir. Yemlerin in vitro gaz üretimlerinde gözlenen farklılıkların çeşit farklılıkları, besin madde içerikleri, danelerin kavuz içerip içermemeleri ile nişasta içeriklerine bağlı olarak değişiklik gösterdiği, yüksek derecede ısı işlem gören yem maddelerinin gaz üretimlerinin daha düşük olduğu, bitkilerin olgunlaşması ile gaz üretim miktarlarının düştüğü bilinmektedir (Menke ve Steingass, 1988; Getachew ve ark., 2002).

Sonuç olarak bu projede asit ve fermente balık silajı tozlarının in-vitro sindirilebilirlikleri ile ilgili veriler genel olarak değerlendirildiğinde balık silajı tozlarının ham protein içeriğinin ve sindirilebilirliğinin yüksek olduğu ve hayvan besleme için değerli bir yem kaynağı olduğu söylenebilmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hedef türlerin yanında avlanan ıskarta balık türleri ve su ürünleri işleme atıklarının kontrolü sağlanmadığı takdirde önemli sağlık ve çevre problemlerine yol açabilmektedir. Bu atıklar un haline getirilerek değerlendirilebilir ancak bu yöntem ekonomik olarak önemli bir alt yapı gerektirmektedir. Bu durumda, büyük miktarlarda oluşan balık atıklarının kontrollü fermentasyon gibi ucuz alternatif biyoteknolojik araçlarla değerlendirilmesi üzerine araştırmaların artmasına yol açmıştır. Bu biyoteknolojik yöntem ile büyük ekipmanlar gerektirmeden asitleştirici mikroorganizma ve karbon kaynağı kullanılarak mikrobiyal kontamisyonsuz son ürüne ulaşılabilir. Laktik asit bakterileri, çeşitli tatlı su ve deniz balıklarında veya balıkların iç organlarında bulunur. Laktik asit bakterileri fermentasyon gibi gıda koruma tekniklerinde en yaygın olarak kullanılan mikroorganizmalardır. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asit, fermente ürünlerde asidik koşullar sağladığı ve gıdalarda bozulma ve zehirlenme etmeni olan bakteriler üzerine öldürücü etkiye yol açtığı için gıda korumada kullanışlı bir bileşik olmaktadır. Endüstriyel açıdan balık fermentasyonundan yararlanmak için ticari olarak kabul edilebilir proteolitik aktivite inhibitörlerinin ve uygun psikrotrofik laktik asit kültürlerinin seçimi büyük bir önem arz etmektedir. Bu amaçla silaj yapımında kullanılacak laktik asit bakterilerinin doğal olarak bulunan türlerden izole edilmesi,

Ülkemiz şartlarında silaj oluşumu için en uygun türlerin belirlenmesini sağlayacaktır. Ülkemizde su ürünlerinden silaj yapımı yaygın olmamakla beraber genellikle asit yöntem ile kurulmakta, laktik asit bakterilerince silaj kurulması ile ilgili bir bilgiye rastlanmamaktadır. Bu proje ile fermente silaj kurulurken özellikle ülkemizdeki bazı balıklarda bulunan doğal laktik asit bakterilerinin izole edilmesi, identifikasyonu ve çoğaltılması hedeflenmiştir. Böylece silaj üretiminde özellikle ithal starter kültür arayışına girilmesinin önüne geçilmesi amaçlanmıştır.

Projede, silaj yapımında materyal olarak kullanılan su ürünleri işleme sanayi atıkları bölgede bulunan fabrikalardan, ekonomik değeri olmayan ve ıskarta olarak tanımlanan *Equulites klunzingeri* (eksi balığı) ve bir tatlısu türü olan *Caracius gibelio* ise bölgedeki balıkçılardan temin edilmiştir. Silajların hazırlanmasında kullanılan doğal laktik asit bakteri üyelerinin izolasyonu için araştırmada 2 farklı tatlı su balığı türü (sazan, yayın) ve 3 farklı deniz balığı türü (çipura, levrek, kefal) kullanılmıştır. Saflaştırılan laktik asit bakteri üyeleri morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre ön tanımlamaları yapılmış ve daha sonra moleküler tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. Tanımlanan bakteriler fermentasyon testine tabi tutulup fermente edebilirliklerine göre en iyi beş tür (*Streptococcus spp.*, *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Pd. acidilactici* ve *Ent. gallinarum*) seçilmiştir. Daha sonra, hücre yoğunluğu 10^8 - 10^9 cfu/g olarak ayarlanan bu kültürlerden ıskarta balık türleri ve su ürünleri işleme sanayi atıkları ile fermente silajlar hazırlanmıştır. Ayrıca her ham materyalde kontrol amaçlı olarak formik asit kullanımı ile asit silaj kurulmuştur. Araştırmada hazırlanan asit ve fermente silajların olgunlaşma öncesi ve sonrasında belirli aralıklarla toplam aerob ve anaerob mikroorganizma sayımı, laktik asit bakterileri, küf, toplam koliform, patojen bakteriler (*E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria spp*), pH, TBA, non-protein nitrojen, biyojenik aminler ve organik asit değerleri izlenmiştir. Olgunlaşma sonrasında silajların raf ömrünü arttırabilmek ve diğer amaçlarla kullanımını sağlayabilmek için yağları ekstrakte edilmiştir. Projede, fermente ve asit silajdan elde edilen yağların kompozisyonu ve kalitelerinin belirlenebilmesi için yağ asidi kompozisyonu analizi, serbest yağ asidi analizi, peroksit değeri, tiyobarbitürik asit, anisidin ve totoks analizleri yapılmıştır. Araştırmada bu aşamadan sonra elde edilen tüm silaj örnekleri sprey dryer ile kurutulmuştur. Toz hale gelen asit ve fermente silajların besin madde bileşenleri, amino asit kompozisyonları, biyojenik amin, organik asit içerikleri, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Son olarak toz haldeki silaj örneklerinin in vitro gaz üretim yöntemi kullanılarak hayvan beslemede kullanılabilirlikleri araştırılmıştır.

Araştırmada, PCR sonuçlarına göre izole edilen bakteriler *Enterococcus gallinarum*, *Streptococcus spp*, *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* ve

Lactobacillus delbrueckii subsp. *lactis* olarak belirlenmiştir. İzole edilen bakterilerden fermentasyon yeteneği en yüksek olan bakterilerin *Streptococcus* spp., *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Pd. acidilactici* ve *Ent. gallinarum* türleri olduğu tespit edilmiştir. Burada belirlenen *Ent. gallinarum* türünün bugüne değin yapılan literatür araştırmalarında fermentasyon amaçlı kullanımı ile ilgili herhangi bir bilgiye rastlanılmamıştır. Proje bu yönüyle balığın doğal florasından izole edilen bu türün fermente ürün eldesi veya balık silajında kullanımı ile ilgili yapılan ilk çalışma olmuştur.

Araştırmada yapılan mikrobiyolojik (toplam aerobik sayısı, toplam anaerobik sayısı, toplam laktik asit bakteri sayısı, maya ve küf sayısı ve toplam koliform sayımı) ve kimyasal (NPN, TBA, biyojen amin ve organik asit içeriği) incelemeler sonucunda balığın doğal florasından izole edilen bu beş bakteri türünün de balık silajında kullanımının uygun olduğu ve başta balık silajı olmak üzere birçok fermente ürüne starter kültür olarak kullanılabilceği saptanmıştır.

Projede elde edilen silajların depolanma ve farklı yemlere ilavesinin kolaylaştırılabilmesi için yağlarının ekstrakte edilmesi sonucu yapılan incelemelerde tüm gruplarda geri kazanılan yağların yağ asiti kompozisyonu ve kaliteleri açısından insan beslenmesi için kullanılabilir özellikte oldukları tespit edilmiştir. Asit ve fermente silajların yağ asiti kompozisyonları yapıldıkları ham materyalin yağ asiti kompozisyonu ile benzer özelliktedir. Ayrıca PUFA içeriklerinde de önemli bir değişim saptanmamıştır. Geri kazanılan yağların FFA, PV, TBA, anisidin ve totoks gibi kalite göstergeleri incelendiğinde genel olarak tüm asit ve fermente silaj yağlarının kabul edilebilirlik limitleri içerisinde oldukları saptanmıştır. Ancak özellikle fermente silaj yağlarının asit silaj yağlarına göre bu değerler açısından daha iyi kalitede oldukları görülmüştür.

Projede, yağları geri kazanılan balık silajları kurutularak toz hale getirilmişlerdir. Silaj tozlarının besin madde bileşenleri ve amino asit kompozisyonları incelendiğinde, dengeli ve yüksek kaliteli birer protein kaynakları oldukları görülmüştür. Özellikle esansiyel (E)/esansiyel olmayan (NE) amino asit oranlarına bakıldığında *Equulites* ve *Caracius* grubu balık silajı tozlarının su ürünleri işleme atığı ile hazırlanan atık balık silajı tozlarından daha yüksek değerlere sahip olduğu saptanmıştır. Projede incelenen asit ve fermente silaj tozlarının “toplam antioksidan aktivitesi” ve “DPPH (Diphenyl picrylhydrazyl) radikal tutma kapasiteleri” değerlendirildiğinde genel olarak balık silajı tozlarının antioksidan içeriğe sahip değerli bir yem kaynağı olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte balık silajı tozlarının antimikrobiyal aktivitesini belirleyebilmek için “disk difüzyon yöntemi” ve “minimum inhibisyon

konsantrasyonu” değerlendirmeleri sonucunda herhangi bir antimikrobiyal aktivite belirlenememiştir.

Araştırmada, balık silajı tozlarının yaş silaj örneklerine göre oldukça düşük düzeylerde biyojenik amin ve TMA içerdikleri saptanmıştır. Silaj tozları kendi aralarında kıyaslandığında ise *Equulites* grubu silaj tozlarının diğer gruplardan daha yüksek düzeyde biyojenik amin ve TMA içerdikleri, ama genel olarak tüm silaj tozlarının biyojenik aminler yönünden güvenli olduğu belirlenmiştir. Balık silajı tozları organik asitler yönünde değerlendirildiğinde özellikle asit silajlarda formik asit içeriğinin yüksek olduğu fermente silajlarda ise laktik asit, propionik asit ve asetik asitin başlıca üretilen organik asitler olduğu belirlenmiştir. Buna göre araştırmada starter kültür olarak kullanılan bakterilerin fermentasyon koşullarında metabolizmanın esas ürünü olan laktik asidi üretmelerinin yanında fermente ürünlerin koruyuculuğunu arttıran, sindirim sisteminde antibakteriyel etki gösterdiği ve sindirime yardımcı olduğu belirtilen diğer organik asitleri de sentezleyebildikleri söylenebilmektedir.

Projede balık silajı tozlarının in-vitro sindirilebilirlikleri incelendiğinde gruplar arasında farklıklar gözlenmekle birlikte genel olarak tüm grupların balık ununa göre daha yüksek sindirilebilme oranına sahip oldukları saptanmıştır. Balık silajı tozlarının kurutulması aşamasında kurutmaya yardımcı olması için eklenen maltodekstrin'in bir karbonhidrat kaynağı olması nedeniyle sindirimi de arttırdığı düşünülmektedir. Buna göre, projede geliştirilen bu yöntemle hazırlanan balık silajı tozlarının çiftlik hayvanları beslemesi için balık ununa göre daha uygun olduğu da söylenebilir.

Sonuç olarak projede elde edilen tüm veriler genel olarak değerlendirildiğinde balık silajı fermentasyonu için balıkların doğal florasından izole edilerek seçilen beş laktik asit bakteri türünün de silaj yapımına uygun olduğu, bunlardan *Ent. gallinarum* türü için bu amaçla yapılan ilk araştırma olduğu belirlenmiştir. Fermente silajlardan ekstrakte edilen yağların asit silajlardan ekstrakte edilen yağlara göre kimyasal kalitelerinin daha iyi oldukları belirlenmekle birlikte tüm silaj gruplarından ekstrakte edilen yağların insan beslenmesi için uygun kalitede oldukları saptanmıştır. Son olarak besin madde bileşenleri, amino asit kompozisyonları, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri, biyojenik amin, organik asit ve in-vitro sindirilebilirlikleri ile ilgili veriler genel olarak değerlendirildiğinde balık silajı tozlarının hayvan besleme için değerli bir yem kaynağı olduğu söylenebilmektedir.

Asit balık silajı üretimi ticari olarak Danimarka'da 35 yıldır kullanılmaktadır, yıllık üretimi 60,000 ton civarındadır. Çevresel problemlere yol açmasından dolayı 1993 yılında balık unu üretim tesislerinin kurulmasına izin verilmemeye başlanan Polonya'da da bu tekniğe yönelim başlamıştır. Norveç'te balık silajı balık iç organları ve diğer atıkları

kullanılarak ticari olarak üretilmekte, yaklaşık yılda 268,500 tonluk üretimiyle dünyadaki en önemli silaj üreticisi konumundadır ve bu üretim temel olarak salmon yetiştiriciliğinden kaynaklanmaktadır (Rustad ve ark., 2011). Ülkemizde de çok sayıda bulunan balık çiftliği, işleme tesisi ve avcılık faaliyeti sonucu açığa çıkan su ürünleri atıklarının bu yönde değerlendirilebilme potansiyeli yüksek görünmektedir.

Avrupa Parlamentosu ve Konseyinin 1774/2002 numaralı yönetmeliği, hayvan ve halk sağlığına risk oluşturabilecek hayvansal kaynaklı yan ürünlerin toplanması, saklanması, işlenmesi, kullanımı ve bertaraf edilmesi ile ilgili sağlık kurallarını belirlemektedir. Bu yönetmelik yem yolu ile aktarıldıkları düşünülen dioksin, şap, BSE, patojen mikroorganizma ve virüsler gibi gıda krizlerine neden olabilecek ajanlardan korunmak amacı ile hazırlanmıştır.

Yönetmelikte hayvansal kaynaklı yan ürünler 3 farklı risk kategorisinde değerlendirilmektedir. Birinci kategoride yer alan hayvansal kaynaklı yan ürünler hastalık taşıma riski yüksek olan, enfekte olduğundan şüphelenilen materyalleri içermektedir ve bunların yönetmeliğe uygun olarak bertaraf edilmesi gerekmektedir. Kategori 2 de yer alan yaş gübre veya sindirim kanalı gibi materyaller Kategori 1'deki gibi ya bertaraf edilmeli veya hayvansal tüketime yönelik olarak besin zincirine katılacak şekilde işlenmelidir. Kategori 3 ise daha çok insan tüketimine uygun ancak ticari nedenlerle insan tüketimine sunulmayan veya tercih edilmeyen hayvan parçalarını içermektedir. Bu kategoride yer alan materyallerin halk ve çevre sağlığına da katkısı olacak şekilde insan veya hayvansal tüketim amaçlı olarak işlenebileceği bildirilmektedir.

Bu direktife göre su ürünleri işleme tesislerinde açığa çıkan pul, kafa, deri vb yan ürünler kategori 3 materyali olarak değerlendirilebilir. Ülkemizde Avrupa Birliğinde uygulandığı şekli ile hayvansal yan-ürünlerin risk durumuna göre değerlendirilmesi henüz yapılmamaktadır. Gıda güvenliğinin Avrupa Birliği üyelik görüşmelerinde önemli konulardan biri olması ve yan-ürünler konusunun uyum çalışmalarında önem arz etmesi, çevre ve halk sağlığımız yanında ülke ekonomisine de önemli katkılar sağlayacaktır. Bu kapsamda yapılan bu projenin su ürünleri ıskarta ve işleme sanayi atıklarının değerlendirilmesine ve bu proje temelinde diğer gıda yan ürünlerine de temel oluşturacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Ashton, I.P., Unilever, R. and Sharnbrook, D., 2002. Sayfa 254-285. Understanding lipid oxidation in fish, In: Safety and quality issues in fish processing. Editör: Bremner H.A., Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.
- Amit, K. R., Jini, R., Swapna, H. C., Sachindra, N. M., Bhaskar, N., and Baskaran, V. 2011. "Application of native lactic acid bacteria (LAB) for fermentative recovery of lipids and proteins from fish processing wastes: Bioactivities of fermentation products". Journal of Aquatic Food Product Technology, 20, 32–44.
- A.O.C.S. 1994. The Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign, IL. USA: American Oil Chemists' Society Press.
- Akkaya, Z., Schröder, J., Tavman, S., Kumcuoğlu, S., Schuchmann, H.P., Gaukel, V. 2010. "Effects of spray drying on physical properties, total phenolic content and antioxidant activity of carob molasses". International Journal of Food Engineering, 8 (4), Article 20, DOI: 10.1515/1556-3758.2593.
- AOCS. 1994. The Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, the American Oil Chemists' Society, Champaign, IL.

- AOAC. 1998. *Official Methods of Analysis*, 16th Ed., Chapter 39. (Chapter editor D.L., Soderberg) In: *Official Methods of Analysis of AOAC International*, P. Cunniff (Eds), Gaithersburg, MD
- AOCS. 1998. Official method Cd 19-90. 2-Thiobarbituric acid value. Direct method. In *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*, 5th Ed. (D.Firestone, ed.) pp. 19–90, AOCS, Champaign, IL.
- Arruda, L. F. 2004. Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) para obtenção de silagem e óleo como subprodutos. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior De Agricultura "Luiz De Queiroz", Universidade De São Paulo, Piracicaba, Brasil. 78p.
- Arruda, L.F., Ricardo B., Marillia O. 2007. "Use of fish waste as silage - A review". *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50, 879-886.
- Arts, M.T., Ackman, R.G. and Holub, B.J. 2001. "Essential fatty acids' in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution". *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58, 122–137.
- Balcázar, J.L. Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Vendrell, D., Gironés, O., Muzquiz J.L. 2007. "Sequencing of variable regions of the 16S rRNA gene for identification of lactic acid bacteria isolated from the intestinal microbiota of healthy salmonids". *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 30, 111–118.
- Balios, J. 2003. Nutritional value of fish by-products, and their utilization as fish silage in the nutrition of poultry. In *Proceedings of the 8th International Conference on Environmental Science and Technology* (pp. 8-10).
- Beerli, E.L., Beerli, K.M. Logato, P.V.R. 2004. "Silagem acida de residuos de truta (*Oncorhynchus mykiss*) com a utilização de ácido muriático". *Ciencia Agrotecnologica*, 28, 195-198.
- Bhandari B.R., Data N., Howes T. 1997 "Problems associated with spray drying of sugar-rich foods". *Drying Technology*, 15,671-684.
- Bhandari B.R., Howes T. 1999. "Implication of glass transition for the drying and stability of dried Foods". *Journal of Food Engineering*, 40,71-79.
- Bhaskar, N., Mahendrakar, N.S. 2007. "Chemical and microbiological changes in acid ensiled visceral waste of Indian major carp *Catla catla* (Hamilton) with emphasis on proteases". *Indian J. Fish.*, 54, 217-225.
- Blatt, C.R. 1991. "Comparison of several organic amendments with a chemical fertilizer for vegetable production". *Scientia Horticulturae*, 47(3), 177-191.

- Bligh E.G., Dyer W.J. 1959. "A Rapid method of total lipid extraction and purification". *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911-917.
- Blümmel, M. and Ørskov, E.R. 1993. "Comparison of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle". *Animal Feed Science and Technology*, 40, 109-119.
- Brink B.J.T., Damink C., Joosten H.M.L.J., and Huis in't Veld J.H.J. 1990. "Occurrence and formation of biologically active amines in foods". *Int J Food Microbiol*, 11, 73-84.
- British Nutrition Foundation 1992. *Unsaturated fatty acids. Nutritional and physiological significance (Report of the British Nutrition Foundation)*. Chapman and Hall, London, pp 156–157
- Bunková L., Bukk F., Hlobilová M., Vakátková Z., Nováková D., Dráb V. 2009. "Tyramine production of technological important strains of *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*". *Eur Food Res Technol.*, 229, 533–538.
- Caygill, C.P.J. Hill, M.J. 1995. "Fish, n-3 fatty-acids and human colorectal and breast-cancer mortality". *European Journal of Cancer Prevention*, 4, 329–332.
- Close, W., Menke, K.H. 1986. "Selected topics in animal nutrition. Deutsche stiftung für internationale entwicklung", Dok 1350 C/a, Germany, pp:170.
- Coton E, and Coton M. 2005. "Multiplex PCR for colony direct detection of Gram-positive histamine- and tyramine-producing bacteria". *J Microbiol. Method*, 63, 296–304.
- Crexi, V.T., Souza-Soares, L.A. and Pinto, L.A.A. 2009. "Carp (*Cyprinus carpio*) oils obtained by fishmeal and ensilage processes: characteristics and lipid profiles". *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1642–1648.
- Crexi, V.T., Monte, M.L., Soares L.A. De S., Pinto, L.A.A. 2010. "Production and refinement of oil from carp (*Cyprinus carpio*) viscera". *Food Chemistry*, 119, 945–950.
- Dapkevicius, M.L.E., Batista I., Nout, M.J.R., Rombouts, F.M., Houben, J., 1998. "Lipid and protein changes during the ensilage of blue whiting (*Micromesistius poutassou* Risso) by acid and biological methods". *Food Chemistry*, 63, 97-102.
- De Deckere, E.A. 1999. "Possible beneficial effect of fish and fish n-3 polyunsaturated fatty acids in breast and colorectal cancer". *European Journal of Cancer Prevention*, 8, 213–221.
- Delgado, H S, Avila E, Sotelo, A. 2008. "Preparation of silage from Spanish Mackerel (*Scomberomorus maculatus*) and its evaluation in broiler diets". *Anim. Feed Sci. Technol.*, 141, 129–140.
- De Silva, S.S., Gunasekera, R.M. and Austin, C.M. 1997. "Changes in fatty acid profile of hybrid red tilapia *Oreochromis mossambicus* X *O. niloticus*, subjected to short-term

- starvation and comparison with changes in seawater raised fish". *Aquaculture*, 153, 273–290.
- Dinç, M., Aslan, D., İçyer, N.C., and Çam, M. 2012. "Gilaburu Suyunun Mikroenkapsülasyonu". *Electronic Journal of Food Technologies*, 7(2), 1-11.
- Dimova, N. 2003. "RP-HPLC Analysis of Aminoacids with UV-Detection". *Bulgarian Academy of Science*, Tome 56, No 12.
- Driehuis, F., Elferink, S.J.W.H., and Spoelstra, S.F. 1999. "Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability". *Journal of Applied Microbiology*, 87(4), 583-594.
- EI-Hili, H. A. 1989 "Effect of feeding with a fish silage base in seabream". *Bulletin de L'Institut National Scientifique et Technique d'Oceano-Graphic et de Peche de Salammbou*, Salammbou, 16, 55-63.
- Espe, M., and Lied, E. 1999. "Fish silage prepared from different cooked and uncooked raw materials: chemical changes during storage at different temperatures". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(2), 327-332.
- FAO, 1995. "Better feed for animals: more food for people". Fish silage for feeding livestock. <http://www.fao.org/docrep/v4440t/v4440T0d.htm>
- Farmanfarmaian, A. and Sun, L.Z. 1999. "Growth Hormone Effects on Essential Amino Acid Absorption, Muscle Amino Acid Profile, NRetention and Nutritional Requirements of Striped Bass Hybrids Genetic Analysis". *Biomolecular Engineering*, 15, 107-113.
- Fernandez M., Zuniga M. 2006. "Amino Acid Catabolic Pathways of Lactic Acid Bacteria". *Critical Reviews in Microbiology*, 32, 155–183
- Fiori, L., Solana, M., Tosi, P., Manfrini, M., Strim, C., and Guella, G. 2012. "Lipid profiles of oil from trout (*Oncorhynchus mykiss*) heads, spines and viscera: Trout byproducts as a possible source of omega-3 lipids" *Food Chemistry*, 134, 1088–1095.
- FDA. 1998. "Bacterial Analytical Manual" 8th ed., Revision A. AOAC International, Washington D.C.
- Freeman, M.P. 2000. "Omega-3 fatty acids in psychiatry. A review". *Annual Review of Clinical Psychology*, 12, 159–165
- Gagnon, B., and Berrouard, S. 1994. "Effects of several organic fertilizers on growth of greenhouse tomato transplants". *Canadian journal of plant science*, 74(1), 167-168.
- Gbogouri, G.A., Linder, M., Fanni, J., Parmentier, M. 2006. "Analysis of lipids extracted from salmon (*Salmo salar*) heads by commercial proteolytic enzymes". *European Journal of Food Science and Technology*, 108, 766–777.

- Gheshlaghi, R., Scharer, J.M., Moo-Young, M., Douglas, P.L. 2008. "Application of Statistical Design for the Optimization of Aminoacids Separation by Reverse-Phase HPLC". *Analytical Biochemistry*, 383, 93-102.
- Ghorbel-Bellaaj, O., Younes, I., Maâlej, H., Hajji, S., and Nasri, M. 2012. "Chitin extraction from shrimp shell waste using *Bacillus* bacteria". *International journal of biological macromolecules*, 51(5), 1196-1201.
- GOED 2014. GOED Voluntary Monograph. Global Organization for EPA and DHA, Salt Lake City, Utah, United States of America.
- Goddard, J.S., Perret, J.S.M. 2005. "Co-drying fish silage for use in aquafeeds". *Animal Feed Science and Technology*, 118, 337-342.
- Goffin, P., Muscariello, L., Lorquet, F., Stukkens, A., Prozzi, D., Sacco, M., Kleerebezem, M., Hols P. 2006. "Involvement of pyruvate oxidase activity and acetate production in the survival of *Lactobacillus plantarum* during the stationary phase of aerobic growth". *Applied and Environmental Microbiology*, 72, 7933–7940
- Gogus, U., and Smith, C. 2010. "n-3 Omega fatty acids: a review of current knowledge". *International Journal of Food Science and Technology*, 45(3), 417-436.
- Gongora, H.G., Ledesma, P., Valvo, VRL., Ruiz, AE., Breccia, J. 2012. "Screening of lactic acid bacteria for fermentation of minced wastes of Argentinean hake (*Merluccius hubbsi*)". *Food and Bioproducts Processing*, 90, 767-772.
- Gonzalez, C. J., Encinas, J. P., Garcia-Lopez, M. L. and Otero A. 2000. "Characterization and identification of lactic acid bacteria from freshwater fishes". *Food Microbiology*, 17, 383-391.
- Goosen, N.J., De Wet, L.F., Görgens, J.F., Jacobs, K., De Bruyn, A. 2014. "Fish silage oil from rainbow trout processing waste as alternative to conventional fish oil in formulated diets for Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus*". *Animal Feed Science and Technology*, 188, 74– 84
- Gottschalk G. 1985. "Bacterial metabolism", 2nd edn. Springer, Berlin Heidelberg New York.
- Goula A.M., Adamopoulos K.G. 2008. "Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp: I. drying kinetics and product recovery". *Drying Technology*, 26, 714-725.
- Gracey, J.R., Collims D.S. and Huey, R. 1999. *Meat hygiene*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA.
- Haard, N.F., Kariel, N., Herzberg, G., Feltham, L.A., and Winter, K. 1985. "Stabilisation of protein and oil in fish silage for use as a ruminant feed supplement". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36(4), 229-241.
- Hammes W.P. and Vogel R.F. 1995. The genus *Lactobacillus*. In *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Wood BJB and Holzapfel WH (Eds), pp 19 – 54, Chapman and Hall, London



- Hammoumi, A., Faid, M., and Amarouch, H. 1998. "Characterization of fermented fish waste used in feeding trials with broilers". *Process Biochemistry*, 33(4), 423-427.
- Health Canada. 2009. Evidence for Quality of Finished Natural Health Products. Ottawa (ON): Natural Health Products Directorate, Health Canada.
- Heras, H., Mcleond, C.A., Ackman, R.G. 1994. "Atlantic dogfish silage, herring silage in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*): growth and sensory evaluation of fillets". *Aquaculture*, 125, 93-1.
- Hernandez-Perez, M., Lopez-Garcia, R.E., Rabanal, R.M., Darias, V., Arias, A. 1994. "Antimicrobial activity of *Visnea mocanera* leaf extracts". *Journal of Ethnopharmacology*, 41, 115–119.
- Hu, Y.J., Xia, W.S. and Liu, X.Y. 2007. "Changes in biogenic amines in fermented silver carp sausages inoculated with mixed starter cultures". *Food Chemistry*, 104, 188–195.
- Hoffman, D.R., Birch, E.E., Birch, D.G. and Uauy, R.D. 1993. "Effects of supplementation with omega 3 long-chain polyunsaturated fatty acids on retinal and cortical development in premature infants". *American Journal of Clinical Nutrition*, 57, 807–812.
- İbrahim, S.M. 2009. "Evaluation of Production and Quality of Salt-Biscuits Supplemented with Fish Protein Concentrate". *World Journal of Dairy and Food Sciences*, 4, 28-31.
- Ichihara, K., Shibahara, A., Yamamoto, K., Nakayama, T. 1996. "An Improved Method for Rapid Analysis of the Fatty Acids of Glycerolipids". *Lipids*, 31, 535-539.
- ICMSF 1982. International Commission on Microbiological Specifications for Foods, Microorganisms in Foods I. Their Significance and Methods of Enumeration. London: University of Toronto Press.
- IUPAC 1987. Method Number 2.504. Determination of the p-anisidine value (p-A.V.), In: Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives (7th edn), Paquot C and Hautfenne A. (Ed.) Blackwell Scientific, Oxford, UK.
- Iwasaki, M. and Harada, R. 1985. "Proximate and Amino Acid Composition of the Roe and Muscle of Selected Marine Species". *Journal of Food Science*, 50, 1585-1587.
- Jacobsen, C., Timm, M., Meyer, A.S. 2001. "Oxidation in fish oil enriched mayonnaise: ascorbic acid and low pH increase oxidative deterioration". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3947–3956.
- Jini, R., Swapna, H.C., Amit, K.R., Vrinda, R., Halami, P.M., Sachindra, N.M., Bhaskar, N. 2011. "Isolation and characterization of potential lactic acid bacteria (LAB) from freshwater fish processing wastes for application in fermentative utilization of fish processing waste". *Braz J Microbiol*, 42, 1516-1525.
- Karim, N. U., Lee, M. F. M. A., and Arshad, A. M. 2015. "The effectiveness of fish silage as organic fertilizer on post-harvest quality of pak choy (*Brassica rapa* L. subsp.

- chinensis*”. European International Journal of Science and Technology Vol. 4 No. 5 June.
- Kılıç Ü., Garipoğlu, A.V., Boğa, M., Yurtseven, S. 2008. “Bazı Yem Ham maddelerinin İn Vitro Gaz Üretim i, Rumen Parçalanabilirlikleri ve Enerji İçeriklerinin Belirlenmesi”.
- Kılıç Ü., Boğa, M. 2009. “Protein İçeriği Farklı Ayçiçeği Tohumu Küspelerinin İn Vitro Gaz Üretgm Tekniği Ve Enzim Tekniği Sonuçları Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi”. Cilt:2, Sayı:2, Sayfa:231-238 TÜBAV BİLİM DERGİSİ.
- Kompiang, I.P.1981. “Fish silage: its prospect and future in Indonesia”. Indonesia Agricultura Research and Development Journal, 3, 9-12.
- Kris-Etherton, P.M., Harris, W.S., and Appel, L.J. 2003. “Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease”. Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology, 23, e20–e30.
- Kutlu, H.R., Baykal Çelik, L. 2005. “Yemler Bilgisi ve Yem Teknolojisi”. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi. Ders Kitapları Yayın No: A-86, Adana.
- Landete J.M, de las Rivas B, Marcobal A, Muñoz R. 2007. “Molecular methods for the detection of biogenic amine-producing bacteria on foods”. Int J Food Microbiol, 117, 258–269.
- Lee, S.M., Kim, K.D., and Kim, T.J. 2004. “Utilization of fermented skipjack tuna viscera as a dietary protein source replacing fish meal or soybean meal for juvenile abalone *Haliotis discus hannai*”. Journal of Shellfish Research, 23(4), 1059-1064
- Liang, M., Wang, J., Chang, Q., and Mai, K. 2006. “Effects of different levels of fish protein hydrolysate in the diet on the nonspecific immunity of Japanese sea bass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvieret Valenciennes, 1828)”. Aquaculture Research, 37(1), 102-106.
- Lindgren, S.E. and Pleje, M. 1983. “Silage fermentation of fish and fish waste products with lactic acid bacteria”. J. Sci. of Food and Agriculture, 34, 1057-1067.
- Lucas P, and Lonvaud-Funel A. 2002. “Purification and partial gene sequence of the tyrosine decarboxylase of *Lactobacillus brevis* IOEB 9809”. FEMS Microbiol Lett., 211, 85–89.
- Lyhs, U. 2002. Lactic acid bacteria associated with the spoilage of fish products, Department of Food and Environmental Hygiene, Helsinki University, Finland.
- Mach, D.T., and Nortvedt, R. 2009. “Chemical and nutritional quality of silage made from raw or cooked lizard fish (*Saurida undosquamis*) and blue crab (*Portunus pelagicus*)”. Journal of the Science of Food and Agriculture, 89(15), 2519-2526.
- Madage, S.S.K., Medis, W.U.D., and Sultanbawa, Y. 2015. “Fish Silage as Replacement of Fishmeal in Red Tilapia Feeds”. Journal of Applied Aquaculture, 27(2), 95-106.
- McDonald, M.A., Hawkins, B.J., Prescott, C.E., and Kimmins, J.P. 1994. “Growth and foliar nutrition of western red cedar fertilized with sewage sludge, pulp sludge, fish silage,

- and wood ash on northern Vancouver Island". Canadian Journal of Forest Research, 24(2), 297-301.
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W. 1979. "The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*". J. Agric. Sci. Camb., 93, 217–222.
- Menke, K.H., Steingass, H. 1988. "Estimation of the Energetic Feed Value Obtained from Chemical Analysis and *in vitro* Gas Production Using Rumen Fluid". Anim. Res. Devl., Separate Print, 28, 7-55.
- Morris, M.C., Sacks, F., Rosner, B. 1993. "Does fish-oil lower bloodpressure – a metaanalysis of controlled trials". Circulation, 88, 523–533.
- Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C., Tenover, R.H. 1995. Manual of Clinical Microbiology, 6th ed. ASM, Washington, DC.
- Murthy, P. S., Rai, A. K., and Bhaskar, N. 2014. "Fermentative recovery of lipids and proteins from freshwater fish head waste with reference to antimicrobial and antioxidant properties of protein hydrolysate". Journal of food science and technology, 51(9), 1884-1892.
- Nair P.S., Surendran P.K. 2005. "Biochemical Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fish and Prawn". Journal of Culture Collections, 4, 48-52.
- Ndaw, A.D., M. Faid, A., Bouseta A., Zinedine 2008. "Effect of controlled lactic acid bacteria fermentation on the microbiological and chemical quality of Moroccan sardines (*Sardina pilchardus*)". Int. J. Agri. Biol., 10, 21–27.
- Norton, B.W. 2003. "The nutritive value of tree legumes". EriGim tarihi: 23.10.2003. from <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Publicat/Gutt-shel/x5556e0j.htm> , pp. 1-10.
- Ochiai, M. Wakabayashi, K. Nagao, M. Sugimura T. 1984. "Tyramine is a major mutagen precursor in soy sauce, being convertible to a mutagen by nitrite". Gann, 75, 1–3
- O'Donnell, C.D., Dornblaser, L. 2002. Amino acids/Peptides. Prepared Foods, 117, 72-73.
- Okino, S., Inui, M., and Yukawa, H. 2005. "Production of organic acids by *Corynebacterium glutamicum* under oxygen deprivation". *Applied microbiology and biotechnology*, 68(4), 475-480.
- Ornelas, S., Gutiérrez, E., Juárez, A., Garciduenas, R., Espinoza, J.L., Perea, M., Flores, J.P. and Salas, G. 2011. "Use of silage acid devil fish (*Pterygoplichthys spp.*) as protein supplement in finishing beef cattle". Journal of Agricultural Science and Technology, A 1, 1280–1283.

- Ørskov, E.R., McDonald, I. 1979. "The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage". J. Agric. Sci. Camb., 92, 499–503.
- Ostergaard, A., Ben Embarek, P.K., Yamprayoon, J., Wedel-Neergaard, C., HUSS, H., GRAM, L. 1998. "Fermentation and spoilage of som-fak a Thai low-salt fish product". Trop. Sci., 38, 105-112.
- Ozogul F., Taylor K.D.A., Qantick P., Ozogul Y. 2002. "Biogenic Amines Formation in Atlantic Herring (*Clupea harengus*) Stored Under Modified Atmosphere Packing Using a Rapid HPLC Method". Int J Food Sci Technol., 37, 512–522.
- Ozoğul Y., Durmuş, M., Uçar, Y., Ozogul, F., Regenstein, J.M. 2016. "Comparative study of nanoemulsions based on commercial oils (sunflower, canola, corn, olive, soybean, and hazelnut oils): Effect on microbial, sensory, and chemical quality of refrigerated farmed sea bass". Innovative Food Science and Emerging Technologies, doi: 10.1016/j.ifset.2015.12.018.
- Özoğul Y., Boga, E., Ozogul, F. 2009. "Quality changes of marinated tenc (*Tinca tinca*) during refrigerated storage". Food Sci. Tech Int., 15, 513 – 521.
- Özyurt, G., Şimşek, A., Etyemez, M., and Polat, A. 2013. "Fatty Acid Composition and Oxidative Stability of Fish Oil Products in Turkish Retail Market". Journal of Aquatic Food Product Technology, 22(3), 322-329.
- Özyurt, G., Gökdoğan, S., Şimşek, A., Yuvka, I., Ergüven, M., and Kuley Boga, E. 2016. "Fatty acid composition and biogenic amines in acidified and fermented fish silage: a comparison study". Archives of Animal Nutrition, 1-15.
- Pak C.S. 2005. "Stability and quality of fish oil during typical domestic application". Final Project, The United Nations Fisheries Training Programme.
- Paulsen, P., Grossgut, R., Bauer, F., and Rauscher-Gabernig, E. 2012. "Estimates of maximum tolerable levels of tyramine content in foods in Austria". Journal of Food and Nutrition Research, 51, 52-59.
- Pike I.H., Miller, E.L., Short, K. 1994. "The role of fish meal in dairy cow feeding". Technical Bulletin, UK, Pp: 23.
- Raa, J., Gilberg, A. 1982. "Fish silage: A review". CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 16, 383-420.
- Rahmi, M., Faid, M., Elyachioui, M., Berny, E. H., Fakir, M., and Ouhssine, M. 2008. "Protein rich ingredients from fish waste for sheep feeding". Afr. J. Microbiol. Res., 2, 73-77.
- Rai, A.K., Swapna, H.C, Bhaskar ,N., Halami, P.M., Sachindra, N.M. 2010. "Effect of fermentation ensilaging on recovery of oil from fresh water fish viscera". Enzyme and Microbial Technology, 46, 9–13.

- Rai, A.K., Swapna, H.C, Bhaskar ,N., Baskaran V. 2012. “Potential of Seafood Industry by Products as Sources of Recoverable Lipids: Fatty Acid Composition of Meat and Nonmeat Component of Selected Indian Marine Fishes”. *Journal of Food Biochemistry*, 36, 441-448.
- Reis, P.J., Schinckel, P.G. 1961. *Aust. J. Agric. Res.*, 12, 335.
- Ramasubburayan, R., Iyapparaj, P., Subhashini K.J., Chandran, M.N., Palavesam A, Immanuel G. 2013. “Characterization and nutritional quality of formic acid silage developed from marine fishery waste and their potential utilization as feed stuff for common carp cyprinus carpio fingerlings”. *Turkish J. Fisheries Aquatic Sci.*, 13, 281-289.
- Ringo, E., Gatesoupe, F. 1998. “Lactic acid bacteria :A review”. *Aquaculture*, 160, 177-203.
- Ritter, J.C.S., Budge, S.M. and Jovica, F. 2013. “Quality analysis of commercial fish oil preparations”. *J. Sci. Food Agric.*, 93: 1935–1939. doi: 10.1002/jsfa.5994
- Ruthu, and Murthy, P.S., Rai, A.K. and Bhaskar, N. 2014. “Fermentative recovery of lipids and proteins from freshwater fish head waste with reference to antimicrobial and antioxidant properties of protein hydrolysate”. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), 1884–1892.
- Sahnouni F., Matallah-Boutiba, A., Chemlal. D., Boutiba, Z. 2012. “Characterization of Technological properties of lactic acid bacteria isolated from intertinal microbiota of marine fish caught in the coast of oran Algeria”. *Agricultural Journal*, 7, 81-87.
- Salas, G., Gutiérrez, E., Juárez, A., Flores, J. P., and Perea, M. 2011. “Use of the Devil Fish in Animal Feed as an Alternative to Productive Diversification and Mitigation of Environmental Damage in the South and West of México”. *Journal of Agricultural Science and Technology A*, 1232.
- Salle, A.J. 1954. “Laboratory manual on fundamental principles of bacteriology”. 4th Ed. McGraw Hill Book Co. Inc., New York.
- Samar, M.M., El-Kalyoubi, M.H., Khalaf, M.M., and El-Razik, M.A. 2013. “Physicochemical, functional, antioxidant and antibacterial properties of chitosan extracted from shrimp wastes by microwave technique”. *Annals of Agricultural Sciences*, 58(1), 33-41.
- Santos, F.A.P., Santos, J.E.P., Theurer, C.B., and Huber, J.T. 1998. “Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: A 12-year literature review”. *Journal of dairy Science*, 81(12), 3182-3213.
- Santos, F.A.P., Santos, J.E.P., Theurer, C.B, Huber, J.T. 1998. “Effects of rumen undegradable protein on dairy cow performance: a 12-year literature review”. *J. Dairy Sci.*, 81, 3182–3213.

- Schormüller, J. 1969. "Handbuch der Lebensmittelchemie. Band IV. Fette und Lipide (lipids) Springer-Verlag". Berlin, Heidelberg, New York. 872-878.
- Seo, H.S., Endo, Y., Muramoto, K., Fujimoto, K., Moku, M. and Kawaguchi, K. 1998. "Amino Acid Composition of Proteins in Myctophid Fishes in the Subarctic and Tropical Pacific Ocean". *Fisheries Science*, 64 (4), 652-653.
- Shahidi, F., and Wanasundara, U.N. 2002. "Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils". *Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology*, 387-403.
- Shirai, K., Guerrero, I., Huerta, S., Saucedo, G., Castillo, A., Gonzalez, R.O., and Hall, G.M. 2001. "Effect of initial glucose concentration and inoculation level of lactic acid bacteria in shrimp waste ensilation". *Enzyme and Microbial Technology*, 28(4), 446-452.
- Sheriff, S.A., Sundaram, B., Ramamoorthy, B., and Ponnusamy, P. 2014. "Synthesis and in vitro antioxidant functions of protein hydrolysate from backbones of *Rastrelliger kanagurta* by proteolytic enzymes". *Saudi journal of biological sciences*, 21(1), 19-26.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. 1992. "Antioxidative properties of xanthan on the antioxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 945-948.
- Shirai, K., Guerrero, I., Huerta, S., Saucedo, G., Castillo, A. 2001. "Effect of initial glucose concentration and inoculation level of lactic acid bacteria in shrimp waste ensilation". *Enzyme and Microbial Technology*, 28, 446-452.
- Shrestha AK, Ua-Arak T, Howes T, Adhikari BP, Bhandari BR. 2007. "Glass transition behavior of spray dried orange juice powder measured by differential scanning calorimetry (DSC) and thermal mechanical compression test (TMCT)". *International Journal of Food Properties*. 10, 661-673.
- Simopoulos, A.P. 2008. "The importance of the omega-6 / omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases". *Experimental Biology and Medicine*, 233, 674-688.
- Skrivanova, E., Marounek, M., Benda, V., and Brezina, P. 2006. "Susceptibility of *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. and *Clostridium perfringens* to organic acids and monolaurin". *Veterinarni Medicina-Praha*, 51(3), 81.
- Speck, M.L. 1984. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 2nd ed. Am. Public Health Assn. Washington, DC.
- Stern, M.D., Varga, G.A., Clark, J.H., Firkins, J.L., Huber, J.T., and Palmquist, D.L. 1994. "Evaluation of chemical and physical properties of feeds that affect protein metabolism in the rumen". *Journal of Dairy Science*, 77(9), 2762-2786

- Su, K.P., Huang, S.Y., Chiu, C.C., Shen, W.W. 2003. "Omega-3 fattyacids in major depressive disorder – a preliminary double-blind, placebo-controlled trial". *European Neuropsychopharmacology*, 13, 267–271.
- Suomalainen, T.H., and Mayra-Makinen, A.M. 1999. "Propionic acid bacteria as protective cultures in fermented milks and breads". *Lait*, 79, 165–174.
- Tanuja, S., Mohanty, P.K., Kumar, A., Moharana A., Nayak S.K. 2014. "Shelf life study of acid added silage produced from fresh water fish dressing waste with and without the addition of antioxidants". *International Journal of Agriculture and Food Science Technology*, 5, 91-98.
- Tarladgis B., Watts B.M., Yonathan M. 1960. "Distillation Method for the Determination of Malonaldehyde in Rancidty Food". *J. American Oil Che. Soc.*, 37(1), 44-48.
- Tejeda-Arroyo, E., Cipriano-Salazar, M., Camacho-Díaz, L.M., Salem, A.Z.M., Kholif, A.E., Elghandour, M.M.M.Y., and Cruz-Lagunas, B. 2015. "Diet inclusion of devil fish (*Plecostomus spp.*) silage and its impacts on ruminal fermentation and growth performance of growing lambs in hot regions of Mexico". *Tropical animal health and production*, 47(5), 861-866
- Tsai, Y.H., Lin, C.Y., Chien, L.T., Lee, T.M., Wei, C.I., and Hwang, D.F. 2006. "Histamine contents of fermented fish products in Taiwan and isolation of histamine-forming bacteria". *Food Chemistry*, 98(1), 64-70.
- Turchini, G.M., Torstensen, B.E., and Ng, W.K. 2009. "Fish oil replacement in finfish nutrition". *Review in Aquaculture*, 1, 10–57.
- Umayaparvathi, S., Meenakshi, S., Vimalraj, V., Arumugam, M., Sivagami, G., and Balasubramanian, T. (2014). "Antioxidant activity and anticancer effect of bioactive peptide from enzymatic hydrolysate of oyster (*Saccostrea cucullata*)". *Biomedicine and Preventive Nutrition*, 4(3), 343-353.
- Van Soest,P.J.,Robertson,J.B.,Lewis,B.A. 1991. "Method for Dietary Fiber,Neutral Detergent Fiber, and Nostarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition". *J. Dairy Sci.*, 74, 3583-3597.
- Vandongen, R., Mori, T.A., Burke, V., Beilin, L.J., Morris, J., Ritchie, J. 1993. "Effects on blood-pressure of omega-3 fats in subjects at increased risk of cardiovascular-disease". *Hypertension*, 22, 371–379.
- Vázquez, J.A., Nogueira, M., Durán, A., Prieto, M.A., Rodríguez-Amado, I., Rial, D., and Murado, M.A. 2011. "Preparation of marine silage of swordfish, ray and shark visceral waste by lactic acid bacteria". *Journal of Food Engineering*, 103(4), 442-448.

- Vidotti, R.M., Viegas, E.M.M., Carneiro, D.J. 2003. "Amino acid composition of processed fish silage using different raw materials". *Animal Feed Science and Technology*, 105, 199–204.
- Vidotti, R.M., Pacheco, M.T.B.P., Gonçalves, G.S. 2011. "Characterization of the oils present in acid and fermented silages produced from Tilapia filleting residue". *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40 (2), 240-244.
- Wyatt, B. and Mcgourty, G. 1990. "Use of marine by-products on agricultural crops". *International ByProducts Conference*. p187-195. Anchorage: Alaska, USA.
- Yamagishi, K., Iso, H., Date, C., Fukui, M., Wakai, K., Kikuchi, S. 2008. "Fish, omega-3 polyunsaturated fatty acids, and mortality from cardiovascular diseases in a nationwide community-based cohort of Japanese men and women". *The JACC (Japan collaborative cohort study for evaluation of cancer risk) Study. Journal of American College of Cardiology*, 52, 988–996.
- Wagner, N. Tran, Q.H. Richter, H. Selzer, P.M., Uden G. 2005. "Pyruvate fermentation by *Oenococcus oeni* and *Leuconostoc mesenteroides* and role of pyruvate dehydrogenase in anaerobic fermentation". *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 4966–4971.
- Zahar, M., Benkerroum, N., Guerouali A., Baou, S., Alahian, L. 2002. "Biological ensiling of sardine wastes in sugarcane molasses for their valorization in animal feeding: Microbiological study". *Proc. Intl Symp Environmental Pollution Control and Waste Management 7-10 January 2002, Tunis (EPCOWM'2002)*, 304-311.
- Zhong-Yi, L., Zhong-Hai, L. Miao-Ling Z. and Xiao-Ping D. 2010. "Effect of fermentation with mixed starter cultures on biogenic amines in bighead carp surimi". *International Journal of Food Science and Technology* 45, 930–936

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. GÜLSÜN ÖZYURT
Proje No:	213O166
Proje Başlığı:	Su Ürünleri Atıklarının Doğal Laktik Asit Bakterileri ile Fermentasyonu Sonucu Biyodönüşümü; Fermentasyon Ürünlerinin Kalitesi ve Hayvan Beslenmesinde Kullanılabilirliği
Proje Türü:	1001 - Araştırma
Proje Süresi:	22
Araştırmacılar:	MUSTAFA BOĞA, ESMERAY KÜLEY BOĞA, YEŞİM ÖZOĞUL
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	ÇUKUROVA Ü. SU ÜRÜNLERİ F. SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKN. B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/04/2014 - 01/02/2016
Onaylanan Bütçe:	155350.0
Harcanan Bütçe:	125175.0
Öz:	<p>Balık silajı yüksek kaliteli bir hayvan yemi üretebilmek için iskarta balık türleri ve su ürünleri işleme sanayi atıklarının değerlendirilmesi açısından umut verici bir potansiyele sahiptir. Bu projede öncelikle, fermentasyon yöntemiyle silaj üretiminde, ülkemizdeki balıklarda doğal olarak bulunan laktik asit bakterilerinin belirlenmesi ve bunlardan hangi türlerin uygun olduğunun saptanması amaçlanmıştır. İkinci olarak, silajlardan ekstrakte edilen yağların kompozisyon ve kalitelerinin belirlenmesiyle insan ve hayvan beslemede kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Son olarak farklı laktik asit bakterilerince fermente edilmiş balık silajı tozlarının besin madde bileşenleri, amino asit kompozisyonları, antioksidan, antimikrobiyal aktiviteleri, biyojen amin, organik asit içerikleri ve in-vitro sindirilebilirlikleri belirlenerek yem hammaddesi olarak hayvancılık da kullanılabilme olanakları araştırılmıştır.</p> <p>Araştırmada, PCR sonuçlarına göre izole edilen bakterilerden fermentasyon yeteneği en yüksek türlerin <i>Streptococcus</i> spp., <i>Lb. brevis</i>, <i>Lb. plantarum</i>, <i>Pd. acidilactici</i> ve <i>Ent. gallinarum</i> olduğu tespit edilmiştir. Böylece projede, bir asit (formik asit) ve beş bakteri (<i>Streptococcus</i> spp., <i>Lb. brevis</i>, <i>Lb. plantarum</i>, <i>Pd. acidilactici</i> ve <i>Ent. gallinarum</i>) olmak üzere üç farklı ham materyalde (<i>Equulites klunzingeri</i>, <i>Caracius gibelio</i> ve işleme atıkları) altı grup silaj denemesi gerçekleştirilmiştir. Silajlar üzerinde yapılan mikrobiyolojik ve kimyasal değerlendirmeler sonucunda çalışılan bu bakterilerin başta balık silajı olmak üzere birçok fermente ürüne starter kültür olarak kullanılabilmesi saptanmıştır. Ayrıca bu proje, izole edilen <i>Ent. gallinarum</i> türünün fermentasyon amaçlı kullanımı ile ilgili ilk çalışma olmuştur.</p> <p>Araştırmada, formik asit ve laktik asit bakterileri ile fermente edilerek hazırlanan silajlardan ekstrakte edilen yağların yağ asit profillerinin genel olarak elde edildikleri ham materyalinkine benzer olduğu bulunmuştur. Serbest yağ asiti, peroksit, tiyobarbitürik asit, anisidin ve totoks verileri değerlendirildiğinde fermente silajlardan ekstrakte edilen yağların asit silajlardan ekstrakte edilen yağlardan daha iyi kalitede oldukları görülmüştür.</p> <p>Yağları ayırdıktan sonra kurutulmuş toz hale getirilen balık silajlarının besin madde bileşenleri, amino asit kompozisyonları, toplam antioksidan, DPPH inhibisyon oranları, biyojen amin, organik asit içerikleri ve in-vitro sindirilebilirlikleri değerlendirildiğinde; balık silajı tozlarının sindirilebilirliği yüksek değerli bir yem kaynağı olduğu saptanmıştır.</p>
Anahtar Kelimeler:	Silaj, LAB, kalite, balık yağları, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite, besleme
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır

Proje Yapılan Yayınlar:	<p>1- Fatty acid compositions of cyprinid fish oils (<i>Carassius gibelio</i>) extracted from silage treated with formic acid and different bacteria strains. (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum),</p> <p>2- İşleme atıklarından hazırlanan balık silajlarından geri kazanılan yağların karakterizasyonu (Bildiri - Ulusal Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>3- The Effect of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fish on Microbiological Quality of Silage Made from Fish Processing Waste (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>4- Bazı Balık Türlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Fermantasyon Yeteneklerinin Araştırılması (Bildiri - Ulusal Bildiri - Sözlü Sunum),</p>
-------------------------	--

TÜBİTAK