

BALIKTA AVLANMA SONRASI MEYDANA GELEN BİYOKİMYASAL DEĞİŞMELER

BIOCHEMICAL CHANGES OF FISH AFTER HARVESTING

Ayla SOYER

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

ÖZET: Balık, et kalitesinin ve besin değerinin yüksekliğinden dolayı sevilen bir gıdadır. Balıktaki lipidler, proteinler ve protein olmayan bileşikler ölüm sonrası oluşan ortam nedeniyle biyokimyasal reaksiyonlara maruz kalmaktadırlar.

Balıktaki temel enerji kaynakları olan adenosin trifosfat (ATP) ve kas glikojeni, ölüm sonrası sürekli üretimin durması sonucu süratle harcanmaktadır. ATP'nin harcanması ve membran bütünlüğünün bozulması sonucu aktin ve miyosin köpürleri geri dönüşsüz olarak oluşmaktadır (rigor-mortis). ATP'nin hipoksantine parçalanması, oluşan anaerobik ortamda glikoliz yoluyla kas glikojeninden laktik asit oluşması, trimetilamin oksitten trimetilamin oluşması ortamdaki enzimler ve mikroorganizmaların varlığında ileri düzeyde biyokimyasal reaksiyonlara neden olmakta, lipidler ve proteinlerde meydana gelen değişimler balık tat, koku ve tekstüründe değişimlere yol açmaktadır.

ABSTRACT: Fish is a desirable food by the consumers due to its unique meat structure and highly nutritional value. Under the conditions formed after death, lipids, proteins and non-protein nitrogenous components present in fish muscle undergo some biochemical reactions.

The primary energy sources, adenosine triphosphate (ATP) and muscle glycogen, are rapidly depleted due to preventing of regeneration after the death. ATP depletion and the loss of membran integrity cause irreversible interaction of actin-myosin known as rigor-mortis. ATP breakdown to hypoxanthine, lactic acid production from glycogen by glycolysis when the muscle turns anaerobic condition, and trimethylamine production from trimethylamine oxide leads to further biochemical reactions in the presence of enzymes and microorganisms. These reactions result in flavor and textural changes in the muscle by modifying the structures of lipids and proteins.

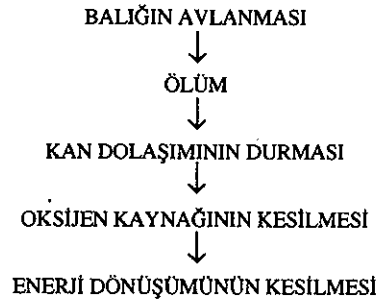
GİRİŞ

Yeni avlanmış bir balık yumuşak tekstürü, hoş giden tat ve kokusu ve yüksek besin değerinden dolayı tercih edilen bir gıdadır (HARDY ve SMITH, 1976, HULTIN, 1992). Balığın yaşadığı ortamın diğer karasal ve kanatlı hayvan etlerinden farklı olması, et kalitesi yönünden farklı olmasının nedenlerinden birisidir. Yaşadığı ortamın su olması nedeniyle balık, kas dokusunu destekleyici güçlü konnektif dokulara gerek göstermemekte ve diğer hayvan etlerinden daha az ve farklı yapıda kollajen içermektedir. Ticari önemi olan bir çok balığın soğuk ortamlarda yaşamaları, balık kas proteinlerinin sıcak kanlı hayvanların kas proteinlerinden farklı özelliklerde olmasının bir diğer nedenidir. Balık kasının farklı bir yapısal dizilişe sahip olması, balığın sudaki hareketinin diğer karasal hayvanlardan farklı olmasından kaynaklanması da balık etini diğer etlerden farklı kıtan bir durumdur (FOEGEDING ve ark., 1996).

Balık eti fazla miktarda su, protein ve lipid içermektedir. Bu bileşikler balığın türüne, yaşadığı ortam, yumurtlama dönemine ve açlık durumuna bağlı olarak geniş varyasyonlar göstermektedir. Yağlı balıkların lipid içeriği yumurtlama dönemlerine bağlı olarak yıl içerisinde %5.1'den %22.6'ya değişebilmektedir (LOVE, 1980). Balığın protein miktarı da açlık durumunda balığın kas proteinlerini kullanmaları nedeniyle azalmakta ve %12'den %26'ya değişen varyasyonlar göstermektedir. Balığın lipid ve protein miktarlarında meydana gelen azalma su miktarındaki artışla dengelenmektedir (SHAHIDI, 1994, FOEGEDING, 1996). Balık etindeki lipidlerin ve proteinlerin stabil olmadıkları, bu durumun balığın vücut sıcaklığı ile ilişkili olduğu ve ticari öneme sahip bir çok balığın soğuk ortamlarda yaşamasının bunun nedeni olduğu bildirilmektedir (HULTIN, 1994).

Balıkta ölüm sonrası (post-mortem) biyokimyasal değişimler, canlı iken sürekli enerji kaynakları olan fakat ölüm sonrası sürekli üretimi duran ATP ve kas glikojeni tükeninceye kadar devam etmektedir. Oluşan post-mortem koşullarda balık, kas dokusundaki lipidler, proteinler ve protein olmayan azotlu bileşiklerdeki biyokimyasal değişimlerden dolayı kalite kaybına uğramaktadır (HULTIN, 1994, SHAHIDI, 1994). Bu makalede avlanma sonrası balık kasında meydana gelen biyokimyasal değişimler detaylandırılacaktır.

Avlanmayı takiben balıkta ölüm sonrası değişimler; balığın doğal ortamından alınması sonucu kan sirkülasyonunun kesilmesiyle yaşamsal faaliyetlerinin sona ermesi, oluşan metabolik artıkların uzaklaştırılması, enerji dönüşümünün kesilmesi ve doku gelişiminin sona ermesi olaylarını kapsamaktadır (Şekil 1) (AMOS, 1981, GREASER, 1986, STANLEY, 1991). Balık avlanma sonrası yaşamsal fonksiyonlarını yitirmesine karşın, kas dokusunda mevcut ATP ve glikojen gibi enerji kaynakları ve diğer kimyasal bileşikler ile post-mortem biyokimyasal reaksiyonlara maruz kalmaktadır (Çizelge 1). Balık kasındaki post-mortem değişimler; balığın türüne, büyüklüğüne ve ortam sıcaklığına göre hızlı veya yavaş gelişmekte, düşük sıcaklıklarda biyokimyasal reaksiyonların hızı yavaşlarken, yüksek sıcaklıklarda artmakta ve meydana gelen ürünler balıkta kalite kaybına ve ileri düzeyde bozulmaya yol açmaktadır (HARDY ve SMITH, 1976, AMOS, 1981, PEDROSA-MENABRITO ve REGENSTEIN, 1988).



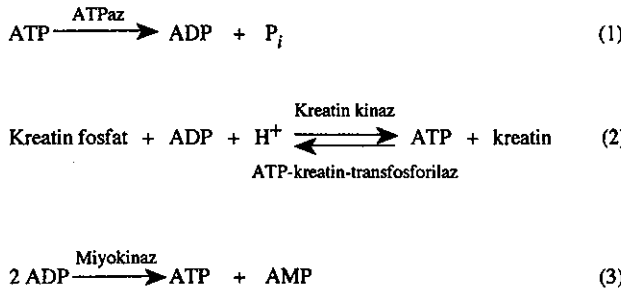
Şekil 1. Balıkta avlanma sonrası meydana gelen başlıca olaylar

Çizelge 1. Post-Mortem Balık Kasında Meydana Gelen Biyokimyasal Değişiklikler

- ATP ve glikojen miktarının azalması
- Hipoksantin miktarının artması
- Sarkoplazmik retikulumun kalsiyumu tutamaması
- Lipoliz ve lipid oksidasyonu
- Proteolitik enzimlerin aktif hale gelmesi
- Trimetilamin oksit'in indirgenmesi
- Amino asitlerin parçalanması

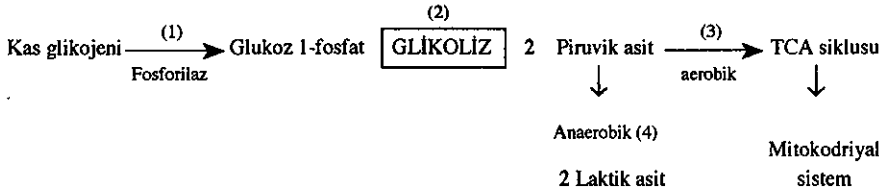
Enerji metabolizmasındaki değişimler

Balık canlı iken kasta kimyasal bir siklus yer almaktadır. Bu kimyasal olaylar, balığın yüzmesi sırasında kasa enerji sağlamak, büyüme ve ölüm dokularının yenilenmesi için gerekli olan maddeleri sağlamaktadır. Canlı kasta yer alan kimyasal reaksiyonları oluşturan ve kontrol eden maddeler enzimler olup, bu proses için gerekli enerji kaynağı ise kimyasal enerjiyi mekanik enerjiye dönüştüren adenosin trifosfat (ATP)'tir. Canlı dokuda ATP tüketimi ve tekrar oluşumu, kasılma ve gevşeme olayları sürekli olurken post-mortem dokuda kan sirkülasyonunun ve oksijen kaynağının kesilmesi sonucu ATP miktarı süratle azalmakta, kasılma ve gevşeme olayları da bu azalma sırasında sınırlı olarak devam etmektedir. Canlı balıkta kasın kasılması için gerekli enerji glikoliz sırasında oluşan ATP'den sağlanmaktadır. ATP, ATPaz enzimi ile adenosin difosfat (ADP)'ye ve inorganik fosfat (P)'a parçalanmakta (Şekil 2 (1)) ve bu sırada açığa çıkan enerji kasın kasılması için kullanılmaktadır. Ancak kas kasılması için çok fazla ATP'ye ihtiyaç duyulmaktadır ve bu ihtiyaç kreatin fosfattan sağlanmaktadır. Kreatin fosfat, kastaki yüksek enerjili fosfat gruplarının deposudur. Bu bileşik kasın aktivitesi sırasında fosfor gruplarını ADP'ye transfer ederek sürekli olarak ATP oluşmasını sağlamakta ve ATP miktarındaki azalmaları önlemektedir. ADP ve kreatin fosfat'tan ATP'nin yeniden oluşması kreatin kinaz enzimiyle katalize edilmektedir (Şekil 2 (2)). Kreatin fosfattan ATP oluşumu iki yönlü olup, kasılma safhası bitip dinlenme safhasına gelindiğinde bu defa serbest kreatin ATP ile reaksiyona girerek ATP-kreatin-transfosforilaz enziminin katalizörlüğünde yeniden kreatin fosfat ve ADP oluşturmaktadır. ATP, miyokinaz enziminin katalizörlüğünde iki molekül ADP'den bir molekül ATP ve bir molekül adenosin monofosfat (AMP)'nin oluşumu ile de sağlanmaktadır (Şekil 2 (3)) (BİNGÖL, 1981, STRYER, 1995).



Şekil 2. Kasta ATP üretimi (STRYER, 1995)

(şekil 3 (2)) ve net 3 molekül ATP oluşmaktadır. Kasta glikoliz olayı ile meydana gelen piruvik asit, aerobik trikarboksilik asit siklusunda fazla miktarda ATP kullanılarak CO₂ ve suya dönüşmektedir. Bunu takip eden mitokondriyal sistemde ise fazla miktarda oksijene gerek duyulduğundan ölüm sonrası işlevini kaybetmektedir. Post-mortem kasta oksijen yokluğunda anaerobik glikolitik sistem baskın olmaktadır.



Şekil 3. Kasta glikoliz olayı ve oluşan ürünler (STRYER, 1995)

Anaerobik glikoliz olayında ATP oluşumu, aerobik solunumdan daha az etkilidir. Anaerobik glikolizde 1 mol glukozdan 2 ya da 3 mol ATP oluşurken, aerobik solunumda 36-37 mol ATP oluşmaktadır (LOVE, 1980). Anaerobik glikoliz sadece mitokondriyal sistemin oksijen olmadığı durumda çalışmaması durumunda meydana gelmektedir. Anaerobik solunum sonucunda ATP, çeşitli ATPazların faaliyetiyle azalmakta ve son ürün olarak laktik asit oluşarak kasta birikmektedir. Postmortem kasta bir miktar ATP, kreatin fosfatın kreatine dönüşümü ile yeniden oluşmakta, fakat laktik asit birikimi ile bu oluşum giderek azalmaktadır. Glikolitik aktivite ortamda substrat bitinceye kadar devam etmekte, ortamda laktik asit birikerek ATP hidrolizi sonucu pH düşmektedir. ATP hidrolizi sonucu kasta hidrojen iyonları konsantrasyonu artmaktadır. Glikoliz olayı ile oluşan laktik asit miktarı ile ATP hidrolizi sonucu pH düşüşü arasında doğrusal bir ilişki olduğu bildirilmektedir (FOEGEDING ve ark., 1996).

Balıkta son pH (ultimate pH), ölüm öncesi balığın maruz bırakıldığı şartlarla ilişkili değildir. Avlanırken çırpınan balıkta oluşan laktik asit, kastan oldukça yavaş uzaklaştırılır. Bu nedenle balık ölümünden önce çok fazla çırpındığında daha fazla laktik asit oluşabilir ve post-mortem kasta bulunur. Diğer yandan avlanma sırasında az çırpınan balıkta ölüm anında az miktarda laktik asit oluşur fakat normal post-mortem glikoliz sırasında oluşan laktik asit miktarı da ölüm öncesi çok çırpınan balıkta oluşan laktik asit miktarıyla aynı düzeyde olur. Anaerobik glikolizle oluşan laktik asit miktarı ile ölüm öncesi oluşan miktarlar birbirine yakın olduğundan ve post-rigor balıkta ATP hidrolizi ile hidrojen iyonları oluştuğundan avlanma sırasındaki çırpınmanın veya ölüm öncesi açlık gibi stres ortamlarının balığın son pH'sını etkilemediği bildirilmektedir (FOEGEDING ve ark., 1996).

Ölüm sertliği (rigor mortis)

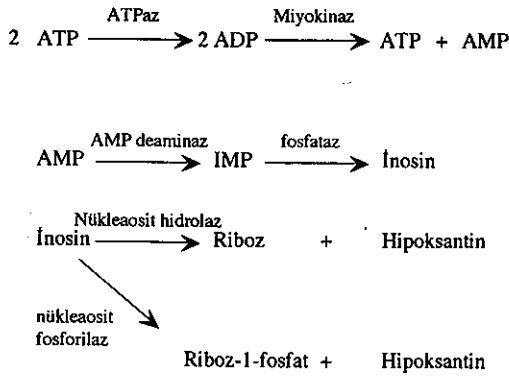
ATP miktarındaki azalma sonucu kas dokudaki membran sistemi ile ilişkili hücre bütünlüğü bozulmaktadır (STANLEY, 1991, HULTIN, 1995, FOEGEDING ve ark., 1996). Canlı balıkta ATP'nin varlığında aktin-miyosin köprülerinin oluşumuyla kasılma ve ortamdaki ATP'nin miyosine bağlanarak aktin filamentinin ayrılması ile de gevşeme meydana gelmektedir. Bu mekanizma, ortamdaki kalsiyum iyonu konsantrasyonu ile tropinin ve tropomiyosin tarafından kontrol altında tutulmaktadır. Post-mortem kasta ATP miktarındaki azalma bağlı olarak oluşan aktin-miyosin köprülerinin çözülmesi zorlaşmakta ve ölüm sertliği (rigor-mortis) olarak

adlandırılan sertleşme meydana gelmektedir. Ortamda yeterli miktarda ATP olmaması halinde aktin-miyosin bağlantısı uzun sürmektedir. Aktin-miyosin bağlantısının çözülmesi bazı enzimlerce Z-hattının parçalanması ile gerçekleşmekte ve balık eti arzu edilir bir gevrekliğe sahip olmaktadır (STRYER, 1995, FOEGEDING ve ark., 1996).

Post-mortem balık kasında ATP kaybı ile pH düşüşü arasındaki doğrudan ilişki, balığın türüne, büyüklüğüne ve ortam sıcaklığına göre değişmektedir. Ton ve uskumru gibi kara etli yağlı balıklarda son pH 5.5 civarında olurken, beyaz etli yağsız balıklarda 6.2-6.6 arasında değişmektedir. Avlanma anında bir çok balıkta ortalama ATP miktarı yağsız kas dokunun gramında 3-5 mg arasındadır ve ATP'nin çoğunun harcandığı an, rigör başlangıcının göstergesi olarak kullanılmaktadır (FOEGEDING ve ark., 1996). Post-mortem balığın rigora girme ve rigordan çıkma süresi balığın türüne, büyüklüğüne, işlenme şekline ve avlandığı ortamın sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir. Bazı balık türlerinin rigora girmesi daha uzun sürmektedir. Bunun nedeni, türler arasındaki kimyasal kompozisyonun farklı olmasıdır. Küçük balıklar rigora büyük balıklardan daha önce girip, daha kısa sürede rigordan çıkmaktadırlar. Post-mortem kasta meydana gelen biyokimyasal olaylar yüksek sıcaklıkta daha hızlı, düşük sıcaklıkta ise daha yavaş gelişmektedir. Yüksek sıcaklıkta balık daha çabuk rigora girip daha kısa sürede rigordan çıkarken, düşük sıcaklıkta bu süre uzamaktadır (STROUD, 1970, PEDROSA-MENABRITO ve REGENSTEIN, 1988).

ATP'nin hipoksantine parçalanması

Post-mortem kas dokuda ATP kaybının diğer bir önemli sonucu da ATP'nin sırasıyla ADP, AMP, inosin monofosfat (IMP), inosin ve hipoksantine dönüşmesidir (Ş ekil 4). Kas dokuda anaerobik şartlar oluşarak mitokondri tarafından ATP'nin yeniden oluşumu engellendiğinde veya glikoliz yoluyla glikojen rezervleri tükenip, pH düştüğünde bu reaksiyonlar meydana gelmekte ve oluşan bu bileşikler balıkta tat ve koku oluşumundan sorumlu olmaktadır (HULTIN, 1992). Şekil 4'te görüldüğü gibi ilk aşamada ATP, ADP'ye ve AMP'ye dönüşmektedir. AMP-deaminaz enziminin katalizörlüğünde AMP'den bir amin çıkarak IMP'ye dönüşmektedir. IMP, fosfataz enziminin katalizörlüğünde inosine ve inosin, nükleosit hidrolaz ya da nükleosit fosforilaz enzimlerinin katalizörlüğünde hipoksantine dönüşmektedir (FOEGEDING ve ark., 1996). IMP ölümden hemen sonra balık kasında birikmekte ve balık tat ve kokusundan sorumlu olmaktadır (IKEDA, 1980). Post-mortem kasta oluşan bu bileşiklerin miktarları aynı değildir. Genellikle, ATP'den AMP yoluyla IMP oluşumu daha çabuk olurken, inosinden hipoksantin oluşumu daha yavaş olmaktadır. Bu şekilde farklı parçalanma ürünlerinin miktarları belirlenerek verilen bir sürede balığın tazelik durumu belirlenebilmektedir. ATP, AMP, IMP, inosin ve hipoksantin miktarlarının ayrı ayrı belirlenmesi mümkün



Şekil 4. Postmortem kasta ATP'nin hipoksantine dönüşümü (FOEGEDING ve ark., 1996)

olmasına karşın, bazı durumlarda birden fazla bileşiğin konsantrasyonlarının bilinmesi daha doğru sonuçlara ulaşmada avantaj olmaktadır. Bu amaçla ATP'nin parçalanma ürünlerinin toplamının inosin ve hipoksantin miktarlarının toplamına oranı olarak ifade edilen K değeri, balıkta tazeliğin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (PEDROSA-MENABRITO ve REGENSTEIN, 1988, 1990, FOEGEDING ve ark., 1996). Hipoksantin konsantrasyonu zamanla artarak balığın kötü tat ve kokusundan sorumlu olmaktadır. Bu nedenle hipoksantin balıkta tazelik göstergesi olarak uzun yıllardan beri kullanılmaktadır (CONNELL ve ark., 1976, MARTIN ve ark., 1978, JACOBBER ve RAND, 1982, PEDROSA-MENABRITO ve REGENSTEIN, 1990).

Sarkoplazmik retikulumun kalsiyumu tutma özelliğinin kaybolması ve proteolitik aktivite

Kastaki temel iki membran sistemi olan sarkoplazmik retikulum (SR) ve mitokondri kalsiyum deposu olup, canlı organizmada kasılma ve gevşeme olaylarını kontrol eden membranlardır. Kalsiyumun alınan uyarılarla SR'dan serbest bırakılması, kasılmadan sorumlu proteinlerin içerdiği ATP'leri aktif hale geçirerek ka-

sılmanın oluşmasına neden olurken, ATP enerjisi ile SR tarafından kalsiyumun geri alınması ile de gevşeme meydana gelir (STANLEY, 1991, FOEGEDING ve ark., 1996). Hücre içerisinde denge halindeki iyon dağılımının bozulması, membranın zarar görmesine yani geçirgenliğinin artmasına yol açmaktadır. Post-mortem kas dokuda oksijensiz ortamda membran bütünlüğünün bozulmasıyla ATP miktarının azalmasına paralel olarak sarkoplazmik retikulum ve mitokondri, kalsiyumu hücre dışına pompalama ve bünyelerine geri alma özelliklerini yitirmektedirler. Post-mortem kasta kalsiyumu kontrol eden bu organellerin işlevlerini yitirmeleri ile kalsiyum serbest kalır. Bunun sonucunda sarkoplazmada kalsiyum iyonu konsantrasyonu artarak bir çok olayın başlamasına neden olmaktadır (Çizelge 2) (HULTIN, 1992). Kastaki kasılma olayı, kalsiyumun troponine bağlanması ile başlamaktadır. Bir çok enzimatik reaksiyon ile çeşitli kalsiyum bağlayan proteinler aktif hale geçmektedir. Buna ilaveten kalsiyum, lipazlara, fosfolipazlara ve kalpein gibi proteazlara bağlanarak bunları aktif hale geçirmektedir. Kalpeinin post-mortem kas dokunun gevrekleşmesinde rol oynadığı da bildirilmektedir. Lipazların aktif hale gelmesi lipid oksidasyonuna duyarlılığı artırırken (GOVINDARAJAN ve ark., 1977), fosfolipazların aktif hale geçmesinin bu oksidasyonu engellediği bildirilmektedir (SHEWFELT ve ark., 1981). Fosfolipazların ve proteazların aktive edilmesinin membran yapısını değiştirerek lipidlerin daha fazla ortaya çıkmasına ve demirin serbest kalmasına yol açtığı ifade edilmektedir. Bunların yanında, kalsiyumun membran fosfolipidlerine bağlanarak membranın yüzey özelliklerini değiştirdiği belirtilmektedir. Kalsiyum iyonu doğrudan sarkomerin Z hattı ile reaksiyona girerek bu hattı zayıflatmakta ve kontraktil (kasılmadan sorumlu) proteinlerin çözülmesine yol açmaktadır. Bu olayın post-mortem kas dokudaki tekstürel değişimler üzerine önemli etkileri olduğu bildirilmektedir. Sarkoplazmada kalsiyum miktarının artması, membran sistemindeki kontraktil proteinlerin ATPaz aktivitelerinin artmasına ve faaliyete geçmelerine neden olur. Bu durum, yukarıda anlatılan glikolitik sistemin aktivitesinin artmasına ve hızlı pH düşüşüne neden olur (TAKAHASHI ve ark., 1987, PEDROSA-MENABRITO ve REGENSTEIN, 1988, TAYLOR ve ETHERINGTON, 1991, HULTIN, 1992).

Çizelge 2. Post-mortem Balık Kasında Ca^{+2} 'nin Rolü
(HULTIN, 1992)

- Proteinlere bağlanarak enzimleri aktif hale geçirir.
- Lipazlara, fosfolipazlara ve kalpein gibi proteazlara doğrudan bağlanarak bu enzimleri aktif hale geçirir.
- Membranlara bağlanarak yüzey özelliklerini değiştirir.
- Z hattını zayıflar.
- Kontraktil proteinlerin, özellikle C-protein ve troponin I'nin çözülmesine neden olur.

Lipoliz ve lipid oksidasyonu

Post-mortem balıkta lipazların aktif hale gelmesi,

lipid oksidasyonuna duyarlılığı artırırken, balık eti içerdiği fazla miktarda çok doymamış yağ asitleri ve prooksidanlar nedeniyle lipid oksidasyonuna eğilimlidir (KHA-YAT ve SCHWALL, 1983, SANTOS ve REGENSTEIN, 1990, HULTIN, 1992, 1994). Balıkta lipid oksidasyonu için substratlar, lipidler ve moleküler oksijendir. Özellikle balıkta bulunan polar fosfolipidler, çok doymamış yağ asitlerini fazla miktarda içermeleri nedeniyle lipid oksi-

dasyonunda önemli olmaktadır. Lipid oksidasyonunda, balıkta bulunan iki değerli metal iyonlarının (Fe^{+2} ve Cu^{+2} gibi) moleküler oksijeni aktif hale getirerek serbest radikal oluşumunda rol oynayan oksijen türlerinin (O_2^- ve $\cdot OH$ gibi) oluşumuna neden olduğu bilinmektedir. Lipid oksidasyonunda önemli olan demirin büyük bir kısmı hemoglobin ve myoglobin gibi heme proteinlerde bulunmakta olup (Fe^{+2}), post-mortem kasta ortamda yeterince hidrojen peroksit bulunduğu okside olmaktadır (Fe^{+3}). Bunun dışında balık kasında bulunan ferritin, transferrin ve non-heme demir gibi proteinler de bünyelerinde demir bulundurmakta ve oksidatif reaksiyonlarda etkili olmaktadır (HULTIN, 1994).

Post-mortem balık kasında ATP'nin kaybı, doğrudan lipid oksidasyonu ile ilişkili ortamların oluşmasına neden olmaktadır. Daha önce belirtildiği üzere, ADP, AMP, IMP, inosin ve hipoksantine yıkımıyla ATP kaybı olmakta ve bu oluşum balığın anaerobik ortama girerek glikoliz yoluyla veya mitokondri tarafından ATP oluşumu engellendiğinde meydana gelmektedir. Bu anaerobik ortamda ksantin dehidrogenaz enzimi de proteolitik enzimlerle ksantin oksidaza indirgenerek post-mortem kasta bulunan moleküler oksijen ile oksidatif reaksiyonlara neden olmaktadır. Ortama moleküler oksijenin girişi ise, balığın kesilmesi, dilimlenmesi veya kıyma çekil-

mesi sırasında olmaktadır (HALLIWELL ve GUTTERIDGE, 1990, HULTIN, 1992).

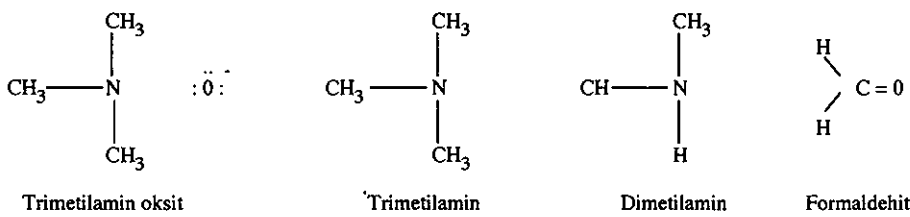
Post-mortem balık kasında enerji kaynaklarının tükenmesi kas hücrelerinin iyon dengesinin bozulmasına neden olmaktadır. Özellikle sarkoplazmik retikulumun kalsiyumu tutma özelliğini yitirmesi ve sitoplazmada kalsiyumun birikmesi lipazların, fosfolipazların ve proteazların aktif hale geçerek lipid oksidasyonunda etkili olmalarına neden olmaktadır. Yine lipid oksidasyonda rol oynayan serbest yağ asitlerinin oluşması ve ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşmesi, kalsiyum iyonunun neden olduğu reaksiyonlardır (HULTIN, 1994).

Balıkta mevcut askorbat, NADH(P)H ve glutation gibi indirgen maddelerin konsantrasyonu post-mortem kasta azalmakta (DECKER ve HULTIN, 1990) ve bu azalma lipid oksidasyonunu etkilemektedir (HULTIN, 1992, 1994).

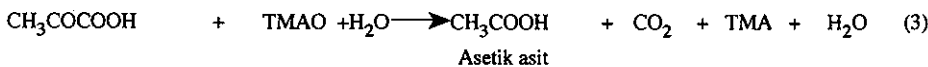
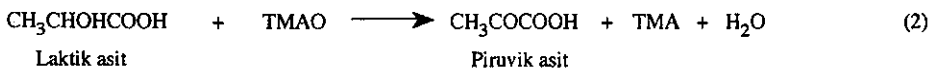
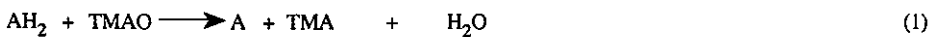
Trimetilamin oksitin indirgenmesi

Trimetilaminoksit (TMAO), deniz balıklarının bir çok türünde ve özellikle de gadoid (beyaz etli) ve Elasmobranch (köpek balığı gibi) balıklarda önemli miktarlarda bulunmakta ve bu balıkların ozmotik ve buffer sistemlerinde rol oynamaktadır (LOVE, 1980, FOEGEDING ve ark., 1996). Post-mortem balık kasında TMAO, balıkta doğal olarak bulunan mikroorganizmaların enzim aktivitesi ile trimetilamin (TMA)'ya indirgenmekte (REGENSTEIN ve ark., 1982, PEDROSA-MENABRITO ve REGENSTEIN, 1988), TMA ise balıktaki "balıksı" kokunun kaynağını oluşturmaktadır (FOEGEDING ve ark., 1996). Ortamdaki enzimlerin faaliyeti ile TMA, dimetilamin (DMA) ve formaldehit (FA)'ya indirgenmektedir (şekil 5). Taze balıkta TMA'dan DMA ve FA oluşumu daha yavaş olmakta, bu nedenle taze balığın bozulmasında önemli olmamaktadırlar. Taze balıkta tazelik kriteri olarak TMA miktarının belirlenmesi kullanılmaktadır (REGENSTEIN ve ark., 1982). Balıkta DMA ve FA oluşumu, ileri düzeyde bozulmaya neden olmaktadır. Dondurularak depolanan balık kasında formaldehit oluşumunun proteinlerde çapraz bağların oluşumuna neden olduğu ve balıkta sert ve süngerimsi bir yapı oluşmasına yol açtığı bildirilmektedir (PEDROSA-MENABRITO ve REGENSTEIN, 1988, HULTIN, 1992, FOEGEDING ve ark., 1996).

TMAO'nun indirgenmesinde rol oynayan bakteriyel enzim; triaminoksidazdır. Bu enzim TMAO'yu aktif hale getirerek bakteriyel dehidrogenazın TMA oluşturmasını sağlamaktadır (Şekil 6 (1)). Bu reaksiyonlar için gereken hidrojen için en iyi kaynak, glikoliz sonucu oluşan piruvik asit ve laktik asittir (şekil 6 (2-3)) (REGENSTEIN ve ark., 1982, PEDROSA-MENABRITO ve REGENSTEIN, 1988).



Şekil 5. Trimetilamin oksit ve indirgenme ürünleri (REGENSTEIN ve ark., 1982)



Şekil 6. TMAO'nun indirgenme reaksiyonları (REGENSTEIN ve ark., 1982)

Amino asitlerin parçalanması

Post-mortem balık kasında biyokimyasal reaksiyonlar otolitik ve kimyasal değişmelerle başlamaktadır. Bu reaksiyonlara, doğal olarak bulunan veya sonradan kontamine olan mikroorganizmalar da katılmaktadır. Mikroorganizmalar, kastaki amino asitleri kullanarak aldehitler, ketonlar, sülfidler, merkaptanlar ve aminler gibi ürünlere parçalamaktadırlar. Balık mikroflorasını oluşturan *Pseudomonas* ve *Achromobacter*ler bir çok amino asiti süratle metabolize etmektedirler. Proteolitik bozulmalar post-mortem kasın ilk dönemlerinde önemli olmaktadır. Çünkü serbest amino asitlerin konsantrasyonu ilk dönemlerde yüksek olduğundan ve bunların proteozları inhibe edici özelliği olduğundan bu amino asitler mikroorganizmalarca okside edilerek aminlere parçalandıktan sonra proteolitik bozulmanın başladığı kabul edilmektedir (GILL ve NEWTON, 1977, PEDROSA-MENABRITO ve REGENSTEIN, 1988). Özellikle bazı yağlı balıklarda bu amino asitlerden oluşan ürünler allerjik gıda zehirlenmelerine (histamin zehirlenmesi gibi) yol açarken, duyuşal özellikleri de olumsuz etkilemektedirler.

KAYNAKLAR

- AMOS, D. 1981. Fish Handling and Preservation at Sea. Marine Bulletin 45. Univ. of Rhode Island, pp. 1-23.
- BİNGÖL, G. 1981. Biyokimya. Mis Matbaası, Ankara, s. 403.
- CONNELL, J.J., HOWGATE, P.F., MACKIE, I.M., SANDERS, H.R., SMITH, G.L. 1976. Comparison of Methods of Freshness Assessment of Wet Fish. IV. Assessment of Commercial Fish at Port Markets. J. Food Technol., 11, 297-308.
- DECKER, E., HULTIN, H.O. 1990. Factors Influencing Catalysis of Lipid Oxidation by the Soluble Fraction of Mackerel Muscle. J. Food Sci., 55, 947-950, 953.
- GILL, C.O., NEWTON, K.G. 1977. The Development of Aerobic Spoilage Flora on Meat Stored at Chill Temperatures. J. Appl. Bact., 43, 189-195.
- GOVINDARAJAN, S., KOTULA, A.W., HULTIN, H.O. 1977. Myoglobin Oxidation in Ground Beef. Mechanistic Studies. J. Food Sci., 42, 571-582.
- GREASER, M.L. 1986. Conversion of Muscle to Meat. In: Muscle as Food; BECHTEL, P.J. (Ed.); Academic Press, Orlando, FL. Chap. 2.
- FOEGEDING, E.A., LANIER, T.C., HULTIN, H.O. 1996. Characteristics of Edible Muscle Tissues. In: Food Chemistry; FENNEMA, O.R. (Ed.); Marcel Dekker, Inc. 3rd ed., New York, pp. 879-942.
- HARDY, R., SMITH, J.G.M. 1976. The Storage of Mackerel (*Scomber scombrus*). Development of Histamine and Rancidity. J. Sci. Food and Agric., 27, 595-599.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C. 1990. Free Radicals in Biology and Medicine. Clarendon Press, Oxford, p. 543.
- HULTIN, H.O. 1992. Biochemical Deterioration of Fish Muscle. In: Quality Assurance in the Fish Industry; HUSS, H.H. (Ed.); Elsevier Science Publishers B.V., New York, pp. 125-138.
- HULTIN, H.O. 1994. Oxidation of Lipids in Seafoods. In: Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality; SHAHIDI, F. ve BOTTA, J. R. (eds.); Blackie Academic & Professional, pp. 49-74.
- HULTIN, H.O. 1995. Role of Membranes in Fish Quality. In: Fish Quality-Role of Biological Membranes; JENSEN, F. (Ed.); Nordic Council of Ministers, Copenhagen, pp 13-35.
- IKEDA, S. 1980. Other Organic Components and Inorganic Components. In: Advances in Fish Science and Technology; CONNELL, J. (Ed.); Fishing News Books Ltd., England, pp. 111-124.
- JACOBER, L.F., RAND, A.G., JR. 1982. Biochemical Evaluation of Seafood. In: Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products; MARTIN, R.E., FLICK, G.J., WARD, D.R. (Eds.); AVI Publishing Com., Westport, Connecticut, pp. 347-363.
- KHAYAT, A., SCHWALL, D. 1983. Lipid Oxidation in Seafood. Food Technology, July, 130-140.
- LOVE, R.M. 1980. The Chemical Biology of Fishes, vol. 2, Advances 1968-1977, Academic Press, London.
- MARTIN, R.E., GRAY, R.J., PIERSON, M.D. 1978. Quality Assessment of Fresh Fish and the Role of Naturally Occuring Microflora. Food Technol., 32 (5) 188-192.
- PEDROSA-MENABRITO, A., REGENSTEIN, J.M. 1988. Shelf-life Extension of Fresh Fish- A Review. Part I- Spoilage of Fish. J. Food Quality, 11, 117-127.
- PEDROSA-MENABRITO, A., REGENSTEIN, J.M. 1990. Shelf-Life Extension of Fresh Fish- A Review. Part II- Preservation of Fish. J. Food Quality, 13, 129-146.
- REGENSTEIN, J.M., SCHLOSSER, M. A., SAMSON, A., FEY, M. 1982. Chemical Changes of Trimethylamine Oxide During Fresh and Frozen Storage of Fish. In: Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products; MARTIN, R.E., FLICK, G.J., WARD, D.R. (Eds.); AVI Publishing Com., Westport, Connecticut, pp. 137-145.
- SANTOS, E.E.M., REGENSTEIN, J.M. 1990. Effects of Vacuum Packaging, Glazing, and Erythorbic Acid on the Shelf-life of Frozen White Hake and Mackerel. J. Food Sci., 55, 64-70.
- SHAHIDI, F. 1994. The Chemistry, Processing Technology and Quality of Seafoods-An Overview. In: Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality; SHAHIDI, F., BOTTA, J.R. (Eds.); Blackie Academic & Professional, Great Britain. pp.1-3.
- SHEWFEELT, R.L., McDONALD, R.E., HULTIN, H.O. 1981. Effect of Phospholipid Hydrolysis on Lipid Oxidation in Flounder Muscle Microsomes. J. Food Sci., 46, 1297-1301.
- STANLEY, D.W. 1991. Biological Membrane Deterioration and Associated Quality Loss in Food Tissues. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 30 (5), 487-553.
- STROUD, G.D. 1970. Rigor in Fish: The Effect on Quality. Torry Advisor Note, No. 36, p. 11.
- STRYER, L. 1995. Biochemistry. W.H. Freeman and Company, 4th ed. New York, p. 1064.
- TAKAHASHI, K., KIM, O.H., YANO, K. 1987. Calcium-Induced Weakening of Z-Disks in Postmortem Skeletal Muscle. J. Biochem., 10, 767-773.
- TAYLOR, M.A.J., ETHERINGTON, D.J. 1991. The Solubilization of Myofibrillar Proteins by Calcium Ions. Meat Sci., 29, 211-219.