

Bazı Su Ürünlerinde Proteolitik Enzim Aktiviteleri (Katepsin D ve Kazein Test)

Şükran ÇAKLI

Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü
35100, Bornova-Izmir-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 09.09.1998

Özet: Bu çalışmada salamura edilmiş ve tuzlanmış ringa (*Clupea harengus*), dondurulmuş *Sebastes marinus* ve taze morina (*Gadus morrhua*) balıklarının fileto ve organlarında Katepsin D (mg Tyrosin/mL⁻¹) ve Kazein (unit/mg) testleri uygulanarak proteolitik enzim aktiviteleri araştırılmıştır.

Araştırma sonunda çalışılan balıklarının fileto ve organlarında Katepsin D testi uygulanarak bulgularan proteolitik enzim aktivitesi, Kazein test uygulanarak bulgularan proteolitik enzim aktivitesinden daha yüksek miktarlarda saptanmıştır. Organlarda (özellikle barsak ve pilorikseka) filetolardan daha yüksek proteolitik enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Bu nedenle balıklarda kalitenin korunması ve uzun bir depolama ömrü için avlanmaya müteakip organların ve kanın uzaklaştırılması gerekmektedir.

Proteolytic Enzyme Activities in Some Fishery Products (Catepsin D and Casein Test)

Abstract: In this study, proteolytic enzyme activities searched on filets and organs of brined and salted ringa (*Clupea harengus*), frozen *Sebastes marinus* and fresh cod (*Gadus morrhua*) with using Catepsin D (mg Tyrosin/L⁻¹) and Casein (unit/mg) tests.

At the end of the study proteolytic enzyme activity determined with using Catepsin D on studied fishes, was higher than the proteolytic enzyme activity determined with using Casein test. It was determined higher activity in organs (especially intestine and pyloric caeca) than the filets. Because of this reason, after fishing as soon as organs and blood must remove to protect quality of fish and for a long shelflife.

Giriş

Proteinazlar, gıda bilimleri ile ve uğraşanlar tarafından, balıklarda ve kabuklu su canlılarında bulunan diğer enzim gruplarından daha çok çalışılmıştır. Bu enzimler üzerine bu kadar yoğunlaşılması olağandı. Çünkü protein hidrolizleri, su ürünlerinin hem kalitesini artırıcı, hem de kaliteyi azaltıcı bir etkiye sahiptir (1).

Doku proteazları tarafından elde edilen protein hidroliz ürünleri, istenen aromanın, tadın, rengin ve geleneksel fermente ürünlerin yapısının oluşmasını sağlarlar. (Tablo 1).

Endojen proteazlardan Katepsin D ve amiopeptidaz aktiviteleri, havyar üretiminde büyük miktarda serbest aminoasitlerin artmasını sağlayarak tad gelişimine olumlu yönde etki ederler. Katepsin A, C ve tripsin (trypsin) enzimleri ise balık kreması gibi ürünlere ilave edilen ve yumuşaklık ve tad gelişimine olumlu yönde etki eden diğer endojen proteazlardır (4). Bu gibi avantajların

yanında protein hidrolizler, ürünün kalitesinin bozulmasına da neden olabilirler (Tablo 2). Örneğin, balıkların avlanmadan sonra buzda depolanmaları esnasında, proteinazları da içeren endojen enzimler, meydana getirdiği kimyasal değişimler sonucunda balıklardaki kalite kaybının başlıca nedenleridir (5). Katepsin B ve L chum salmonunda çok aşırı yumuşak yapının oluşmasını sağlayan ve kaliteyi bozan endojen proteazlar olarak bildirilmiştir (4).

Bir balık türünde, dokularda bulunan endojen enzimlerin miktarı, hidrostatik basınç, suyun stabilitesi, hareket, beslenme ve yaş gibi intraspesifik faktörlerden etkilenir (5). Su ürünlerinin içerdiği proteinazlar, kas hücrelerinde, extrasellüler matrix ve kas hücrelerini çevreleyen konnektif dokularda ve sindirim ile diğer organlarda bulunur. Başlangıç olarak balıkların içerdiği proteinazların özellikleriyle ilgili olarak ilk çalışmalar 100 yıldan daha uzun bir süredir çalışılan sindirim proteazlarıyla başlamıştır (19). Yine kateptik enzimlerin

balıklarda ve kabuklu su canlılarında belirlenmesi halen devam etmektedir. Kas dokusunda, kaleptik ve diğer hidrolitik enzimler, subsellüler organel veya lizozomlarda iki türde bulunurlar. Lizozomal proteinazlar olan katepsinler, endopeptidazların ve/veya endopeptidazların veya ekzopeptidazların bir ailesi olarak belirtilmektedir. Bazı katepsinler asidik pH ortamında aktifken, bazıları da nötral pH ortamında aktiftirler. Katepsin D, bir aspartik proteazken kasta bulunan diğer katepsinler serin veya sistein proteazlardır (4).

Bu enzimler aktivite gösterebilmek için mutlak bir Cl^{-1} iyonuna ihtiyaç duyar. Katepsin C aktivitesi sazan, morina ve Pasifik mezgit balıklarında belirlenebilmiştir (2, 4, 7, 8, 10, 11, 15, 17). Yapılan çalışmalar, bu enzimin ekzopeptidaz aktivitesinin fermente edilmiş balık ürünlerinde arzu edilir bir lezzetin oluşumuna katkı sağladığını ortaya koymuştur (32).

Katepsin D (EC 3.4.4.23) protein substratlarıyla birlikte pepsin gibi aktiviteye sahip bir endopeptidazdır. Fakat düşük moleküler ağırlıklı substratlarla birlikte bu enzim aktivitesi pepsinden farklıdır. Katepsin D, yaklaşık 40 kDa'lık bir moleküler ağırlığa sahip bir glikoproteindir. Omurgasızların hepetopankreaslarında ve yaklaşık pH 3.5 düzeyinde optimal aktivite gösterir. Katepsin D'yi salgıladığı ve bu enzimi sindirim için kullandıkları saptanmıştır. Katepsin D aktivitesi, chum salmonların yumurtlama öncesi göçleri esnasında artmaktadır (1). Yapılan çoğu çalışma göstermiştir ki, balığın Katepsin D enzimi nötral pH düzeyinde değil, asidik pH düzeyinde miyofibriller proteinleri hidrolize edebilmektedir. (10). Tilapialarda Katepsin D gibi proteazlar pH 5.5-6.0'da α -aktinin z bandını indirgeyebilirler (9).

Ürün	Kalite Gelişimi	Enzimler
Havyar	Tat	Katepsin D ve aminopeptidaz aktiviteleri, ürünün işlenmesi esnasında büyük miktarlarda serbest amino asitlerin artmasını sağlar.
Balık Kreması	Yumuşaklık ve tad	Katepsin A, C ve Tripsin (trypsin) enzimleri ürüne ilave edilen endogen proteazlardır.
Kurutulmuş Kalamar	Doku ve tad	Katepsin C, geleneksel ürünün kalitesini sağlar.

Tablo 1. Su Ürünlerinde Kalite Gelişimini Sağlayan Endogen Proteazlar

Ürün	Kalite Gelişimi	Enzimler
Pelajik balıklar yumuşak fileto	Mide şişliği	Bağırsaklardan ve pilorikseka'dan geçen tripsin ve diğer alkalın proteazlar doku proteinlerin ve miyofibriller proteinlerin indirgenmesine neden olurlar
Kabuklu türleri	Abdominal kas yumuşaklığı	Tripsin ve kollegenaz enzimleri hepetopankreasdan gelen enzimler karides ve krillerde kuyruk etinin yumuşamasını sağlar.
Chum salmonu	Çok aşırı yumuşak yapı	Katepsin B ve L.
Morina	Ağız açıklığı, yumuşamış fileto	Kollegenaz ve multikatalik proteazlar, avlanma sonrasında depolanma esnasında dokuların yumuşamasını sağlar.

Tablo 2. Su Ürünlerinde Kaliteyi Bozan Endogen Proteazlar

Bu araştırmada ringa (*Clupea harengus*), *Sebastes marinus* ve morina balıklarında (*Gadus morrhua*), salamura ve tuzlama, dondurma ve taze muhafaza esnasında proteolitik enzim aktiviteleri Katepsin D ve Kazein test uygulanarak fileto ve organlarında araştırılmıştır. Taze ve işlenmiş su ürünlerinde proteolitik enzim aktiviteleri, fileto ve organlarda muhafaza günlerine bağlı olarak araştırılarak farklar ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Deneme Balıkları

Bu araştırma 1994 Haziran ayında Almanya'nın Hamburg şehrinde bulunan "Bundesforschungsanstalt für Fischerei. Biochemie und Technologie" bölümünde yapılmıştır. Araştırmada deneme balıkları olarak ringa (*Clupea harengus*), morina (*Gadus morrhua*) ve *Sebastes marinus* balıkları kullanılmıştır. Proteolitik enzim aktiviteleri Katepsin D ve Kazein Test uygulanarak balıkların filetolarında organlarında (mide, böbrek, dalak, barsak ve pilorikseka ve karaciğerlerinde) tespit edilmiştir.

1. Ringa balıkları; 10 aydan beri salamura içerisinde bekletilen bütün ringa balıkları. Tüm organ ve fileto etinde çalışılmıştır.

2. Tuzlanmış ringa balıkları; Tüm organ ve fileto etinde çalışılmıştır.

3. *Sebastes marinus* : -32°C'de depolanmış 3 günlük balık. Mide, böbrek, pilorikseka, dalak, fileto ve barsakda çalışılmıştır.

4. Morina: Taze morina balıkları. Barsak (içeriği ile), mide (boş), böbrek, pilorikseka, fileto, karaciğer ve dalakta çalışılmıştır.

Proteolitik Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Enzim Testleri İçin Deneme Ekstraktların Hazırlanması

Balığın karnı dikkatlice açılarak organları ve daha sonra fileto eti çıkarılmıştır. Organlar ve fileto (10 g) tartularak, ağırlıklarının 4 katı fazlalığındaki % 0.2 Triton X-100 çözeltisi ile ultrasonda homojenize edilmiştir. 30 dk buzdolabında ekstrakt bekletilmiştir. Sorvall RC 5B'de 30 dk süreyle santrifüj edilmiştir (Rotor SS34 MSE 18: Rotor 69/82 5°C 18000 Upm). Organ ve fileto ekstraktları berrak bir sıvı olarak pastör pipetle alınmıştır. Deneme örneklerinde NaOH kullanılarak bulanıklık kontrolü yapılmıştır.

Proteolitik Aktivitenin Belirlenmesi

1. Azokazein (Sigma A 2765) substrat kullanılarak proteolitik aktivitenin belirlenmesi: Kazein test (13).

Çözeltiler

Tampon Çözelti (pH: 8.0, 25°C)

11.10 g Trizma hydrochlorid (Sigma T-3253)

6.63 g Trizma base (Sigma T-1503); 950 ml saf su içerisinde çözülür.

1.47 g CaCl₂-2H₂O

0.25 g Chlorhexidine dihydrochlorid (Sigma C-8527)

Bu maddelerin hepsi karıştırılır, 1000 ml erlenmayer içerisine alınır, üstü ölçüm çizgisine kadar saf su ile tamamlanır.

Substrat

2.5 g Azokazein 400 ml beher içerisine tartılır, 150 ml tampon çözelti ilave edilir, 200 ml'lik erlenmayer içerisine nakledilir, tampon çözelti ile ölçüm çizgisine kadar tamamlanır.

%10'luk TCE

1 N NaOH

Deneme

Deneme	Kör	
0.8 ml 0.2 ml	0.8 ml -	Substrat Ekstrat
24 h 25°C'de bekletme		
2.0 ml -	2.0 ml 0.2 ml	TCE Ekstrat
Karıştırma, 10 dk 25°C'de bekletme falton filtre kağıdı (S & S 595 1/2 çap 110 mm) ile süzme		
1.0 ml 1.0 ml	1.0 ml 1.0 ml	1 N NaOH Filtrat

450 nm'de spektrofotometrede okuma.

Hesaplama

Aktivite

24 h süre bekletilmediği zaman;

Aktivite = (Deneme örneğinin absorb. değ. - Kör örneğinin absorb. değ.) x 1.25 x 30

Süre (h)

10 g'dan daha az deneme materyallerinde;

$$\text{Sonuç} \times \frac{10 \text{ (g)}}{\text{örnek ağırlığı (g)}}$$

2. Hemoglobin (2x Crystallized sigma chemical co) Substrat kullanılarak proteolitik aktivitenin belirlenmesi: Katepsin D Test (10).

Çözeltiler

% 0.2'lik Triton x 100

Substrat

0.5 g Hemoglobin, 50 ml 475 n Sodyum asetat (CH_3COONa) içinde çözülür, pH = 3'e ayarlanır, falten filtre kağıdından süzülür.

% 10'luk TCA çözeltisi

Folin reaktifi = Günlük, 1 kısım folin reaktifi, 2 kısım saf su ile hazırlanır.

1N NaOH

Deneme

Kör	Deneme
0.5 ml substrat	0.5 ml substrat
0.25 ml saf su	0.25 ml saf su
	0.25 ml deneme ekstraktı
37°C'de inkübasyon (farklı sürelerde)	
0.3 ml%10'luk TCA (kör ve deneme için) ve 0.25 ml deneme ekstraktı (sadece kör örneğe)	
↓	
1.5 dk santrifüjleme	
↓	
0.2 ml folin reaktifi	
0.4 ml santrifüj ekstraktı	
0.4 ml NaOH	
↓	
İyice karıştırılarak, 5-10 dk dinlendirme, 578 nm'de spektrofotometrede okuma	

Bulgular

Deneme örneklerinde bulgularan Katepsin D ve Kazein Test yöntemleri uygulanarak bulgularan proteolitik enzim aktiviteleri Tablo 3'de verilmiştir.

Salamura edilerek 10 aylık depolanmış ringa balıklarının organlarında Katepsin D aktivitesi (mg Tyrosin/mL⁻¹), filetolarındaki aktivitelere göre daha yüksek değerlerde bulgularanmıştır. 10 dk'da Katepsin D aktivitesi 3778.81 mg Tyrosin/mL⁻¹ olarak daha düşük değerde bulgularanmıştır. Organ ve fileto da diğer reaksiyon zamanlarına bağlı olarak sırasıyla 20. dk'da 4122.90 ve

928.41, 30 dk'da 4318.30 ve 769.60, 40. dk'da 4827.30-832.72 mg Tyrosin/mL⁻¹ proteolitik enzim aktiviteleri Katepsin D Test uygulanarak tespit edilmiştir. Organ ve filetodaki enzim aktivitelerinde, çalışılan reaksiyon zamanlarına bağlı olarak yükselme saptanmıştır.

Kazein test uygulanarak bulgularan proteolitik enzim aktivitesinde salamura edilerek depolanmış ringa balıklarında 2. saatte organ ve fileto maksimum aktivite saptanmış olup (7.04 ve 0.05 unit/mg) 19. saatte (4.65 ve 0.0078 unit/mg) ve 24. saatte (0.34 ve 0.0075 unit/mg) daha düşük aktiviteler bulgularanmıştır.

Sebastes marinus balıklarında filetodaki aktiviteye nazaran bazı organlarda (mide, böbrek, pilorikseka, barsak) daha yüksek proteolitik enzim aktiviteleri saptanmıştır.

Sebastes marinus balıklarında Katepsin D test uygulanarak en yüksek proteolitik enzim aktivitesi 5. dk'da barsak (2653.92 mg Tyrosin/mL⁻¹), pilorikseka (1862.94 mg Tyrosin/mL⁻¹) ve mide de (1117.82 mg Tyrosin/mL⁻¹) bulgularanmıştır. Aynı balıklarda Kazein test uygulanarak en yüksek proteolitik enzim aktivitesi 1. saatte mide (83.41 unit/mg), barsak (77-85 unit/mg) ve pilorikseka da (56.30 unit/mg) tespit edilmiştir. Katepsin D ve Kazein testi uygulanarak bulgularan proteolitik enzim aktiviteleri reaksiyon zamanına bağlı olarak azalmıştır.

Tuzlanmış ringa balıklarında, organ ve fileto proteolitik enzim aktivitelerinde reaksiyon zamanlarına (10, 20, 30 ve 40 dk) bağlı olarak artış tespit edilmiş olup 40. dk'da organlarda 1364.12 mg Tyrosin/mL⁻¹ olarak tespit edilen aktivite filetolarda 479.47 mg Tyrosin/mL⁻¹ olarak bulgularanmıştır. Morina balıklarında ise en yüksek aktivite mide de (20 dk. 3668.87 mg Tyrosin/mL⁻¹) saptanmıştır. Taze morina balıklarında fileto ve organlarında reaksiyona zamanlarındaki artışa bağlı olarak artan proteolitik enzim aktiviteleri belirlenmiştir. (Tablo 3).

Tartışma ve Sonuç

Bu araştırmada tuzlanmış ve salamura edilmiş ringa balıklarında, dondurulmuş *Sebastes marinus* ve taze morina balıklarında Katepsin D ve Kazein test uygulanarak proteolitik enzim aktiviteleri fileto ve organlarda (böbrek, ciğer, mide, barsak, pilorikseka, dalak) araştırılmıştır. Genel olarak organlarda (özellikle mide ve pilorikseka) filetodaki aktiviteye göre daha yüksek proteolitik enzim aktivitesi saptanmıştır. Hantschel (8) fermente balık ürünlerin aromasında ve

Tablo 3. Deneme Örneklerinde Katepsin D (mg Tyrosin mL⁻¹) ve Kazein Test (unit/mg) Yöntemleri Uygulanarak Bulguların Proteolitik Enzim Aktiviteleri

Deneme Örneği	Reaksiyon Zamanı				Aktivite
	10 dk	20 dk	30 dk	40 dk	
Ringa balıkları (1) (1. Gün)					
A = Organ					
(1+19 seyreltme 0.5 ml ekst.)	3778.81	4122.90	4318.30	4827.30	Katepsin D (mg Tyrosin mL ⁻¹)
0.5 ml ekst.	936.56	684.09	1832.4	1628.80	
B = Fileto (0.5 ml ekst.,	541.57	928.41	769.60	832.72	Katepsin D (mg Tyrosin mL ⁻¹)
0.1 ml ekst.)	75.33	162.88	-	278.93	
(2. gün)	5 dk	10 dk	15 dk	20 dk	
A = 0.1 ml	38.68	122.16	120.12	128.26	Katepsin D (mg Tyrosin mL ⁻¹)
(1+ 19 seyreltme)	10 dk	20 dk	30 dk	40 dk	
B = 0.1 ml	67.18	303.36	456.06	559.9	
2 saat	2 saat	19 saat	24 saat		
A (0.2 ml)	7.04	4.65	0.34		Kazein (unit/mg)
B (0.2 ml)	0.05	0.0078	0.0075		
Sebastes marinus					
0.2 ml ekst. (1+9 seyreltme)	5 dk	10 dk	20 dk		
A = Mide	1117.82	436.72	141.50		Katepsin D (mg Tyrosin mL ⁻¹)
B = Böbrek	290.13	288.09	692.72		
C = Pilorikseka	1862.94	379.71	89.58		
D = Dalak	27.48	31.55	22.39		
E = Fileto	155.75	249.41	713.61		
F = Barsak	2653.92	440.79	260.6		
	1 saat	2 saat	3 saat		
A	3.27	2.37	2.87		Kazein (unit/mg)
B	83.41	124.99	3.80		
C (0.2 ml)	56.30	0.721	32.24		
D	36.98	35.44	31.48		
E	0.675	0.356	0.281		
F	77.85	72.05	50.90		
ringa balıkları (2)	10 dk	20 dk	30 dk	40 dk	
A = Organ (1+19 seyr.)	112.99	39.70	229.05	146.59	Katepsin D (mg Tyrosin mL ⁻¹)
B = Fileto	277.91	392.94	613.85	838.83	
C = Organ (0.1 ml ekst+0.4 ml dist)	62.09	183.24	232.10	1364.12	
D = Fileto (0.1 ml ekst+0.4 ml dist su)	-	346.12	366.48	479.47	
Morina balıkları (1+19 seyr. 0.2 ml eks+0.3 dist.	5 dk	10 dk	20 dk		
A = Barsak (içeriği ile)	111.98	120.12	175.09		Katepsin D (mg Tyrosin mL ⁻¹)
B = Mide (baş)	2506.31	2982.74	3668.87		
C = Böbrek	174.07	234.14	561.93		
D = Pilorikseka	100.798	37.66	346.12		
E = Fileto	73.29	462.17	557.86		
F = Karaciğer	277.91	475.40	823.56		
G = Dalak	571.14	723.79	1361.01		

duyusal niteliklerinde proteolitik enzimlerin (Katepsin A, C ve D, Tripsin) direkt olarak sorumlu olduğu bildirilmiştir. Siebert ve diğ. (17) gemide depolama esnasında morina (*Gorida morrhua*) balıklarında kaslar içindeki triptik ve kateptik enzim aktivitesini araştırmıştır. Araştırmacılar depolamadan 8 saat sonra kaslar içindeki kateptik aktiviteyi triptik aktiviteden daha yüksek değerlerde bulguladıklarını belirtmişlerdir.

Schober ve Jansen (15) ringa, morina, alabalık ve gümüş sazan balıklarında depolama sıcaklığına bağlı olarak proteolitik enzim aktivitesini araştırmışlardır. Oda sıcaklığındaki depolamada (20±2°C) kıyılmış balık etinde (morina ve alabalık) (ph = 4) 24. saate kadar aktivite yükselmiştir. Bu balıklarda 48. saate kadar devam eden depolama zamanında aktivitenin % 60,95'inin düştüğü bulgulanmıştır. Tüm balık türlerinde asit proteinaz aktivitesinin değişmeden kaldığı belirtilmiştir. Doku

proteazlarının aktiviteleri sonucu oluşan protein hidrolizi ürünleri, geleneksel fermente ürünlerde (havyar, balık silajı, kurutulmuş kalamar, balık kreması vb.) arzu edilen aromanın tadın ve rengin oluşmasını sağlarlar (Katepsin D gibi). Bu gibi avantajların yanında protein hidrolizatları ürünün kalitesinin bozulmasına da neden olabilirler.

Özellikle bağırsaklardan ve piloriksekadan geçen tripsin ve diğer alkalın proteazlar konnektif doku proteinlerinin parçalanmasına neden olurlar. Bu

araştırmada taze ve işlenmiş su ürünlerinde genel olarak organlarda özellikle (mide ve pilorikseka) filetodaki aktiviteye oranla daha yüksek proteolitik enzim aktiviteleri saptanmıştır. Bu nedenle özellikle balıkların işlenerek depolanmasında avlanmaya müteakip organların ve kanın uzaklaştırılması, kaliteyi arttırıcı bir etki yapacağından, ülke ekonomisi açısından da bu durum son derece önemlidir.

Kaynaklar

1. Ando, S., Hatano, M., Zama, K., 1986. Protein Degratation and Protease Activity of Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) Muscle, During Spawning Migration. Fish Physiol. Biochem. 1-17-26.
2. Ardsel, W.B., Coptey, M.J., Olson, R.L., (1969) Quality and Stability of Frozen Foods. Time-Temperature tolerance and Its Significance. Wiley. Interscience. Newyork.
3. Chiou, T.K., Matsui, T., Konosu, S., (1989). Proteolytic activities of mullet and Alaska pollack roes and their changes during processing. Nippon Suisan Gakkaishi. 55. 805-9.
4. Erickson, M.C., Gordon, D.T., Anglemeier, A.F., 1983. Proteolytik Activity in the Sarcoplasmic Fluids of Parasitized Pacific Whiting (*Merluccius productus*) and Unparasitized True Cod (*Gadus macrocephalus*). Journal of Food Science. Volume 48, 1315.
5. Goll, D.E., Klese, W.C., Szpacenko, A., 1989. Skeletal Muscle Proteases and Protein Turnover. In Animal Growth regulation (ed. DR. Campion, G.J., Hausman and R. Martin) Plenum Press, N.Y., p.141.
6. Gore, M.S., Doke, S.N., Ghadi, S.V., Ninjoor, V., (1982). Application of lysosomal enzyme activity in the detection of irradiated fish. Fleischwirtsch. 62 1145-6.
7. Haard, N.F., 1991. Protein hydrolysis in seafoods. In: seafoods: Chemistry, Processing technology and Quality (Ed: F. SHAHIDI., J.R. BOTTA). Blackie Academic & Professional. Madras pp: 11-26.
8. Hantschel, K., 1982. Untersuchungen zur Charakterisierung des Matjeshering und dessen abgrenzung zu anderen mildgesalzenen, genuss fertigen Herings filets. Inagural Dissertation Doctor Medicinæ Veterinaria. Hannover.
9. Jiang, S.T., Moody, M.W., Chen, H.C., 1991. Purification and Characterization of Proteases from Digestive Tract of Grass Shrimp (*Penaeus monodon*). Journal of Food Science. Volume 56, No: 2.
10. Kietzmann, U., 1976. Wissenschaftliche Arbeiten 1950-1980, Der Matjeshering-Technologie und Definition. Zeitschr. f. Lebensmittel- Technologie und Verfahrens technik 10, 274-277.
11. Makinadon, Y., Toyohara, H., Ikeda, S., 1982. Intracellular Distribution of Carp Muscle Cathepsin D and an Electron Micrograph of Muscle Lysosomal Fraction Bull. jap. Soc. Sci. Fish 48, 1501.
12. Oehlenschläger, J., 1994. Bestimmung der gesamtproteolytischen Aktivität in Lake und Extrakt von salzgereiftem pelagischem Fisch. Bundesforschungsanstalt für Fischerei. Institut für Biochemie und Technologie. Hamburg.
13. Okitani, A., Matsumoto, T., Kitamura, Y., Kato, H., 1981. Purification of Cathepsin d From Rabbit Skeletal Muscle and its Action Toward Myofibrils. biochim-biophys. Acta, 662-202.
14. Schalinas, E., Schober, B., 1991. Untersuchungen zur Isolierung Charakterisierung und Applikation von proteolytischen Enzymen der Fischeingeweide. Fischerie. Forschung, Rostock 29,4.
15. Schober, B., Jansen, G.C., 1991. Untersuchungen zur Isolierung Charakterisierung und Applikation von proteolytischen Enzymen der Fischeingeweide. Fischerie. Forschung, Rostock 29,2.
16. Sherekar, S.V., Doke, S.N., Gore, M.S., Ninjoor, B., (1986). Proteinases of tropical fish and their role in autolysis. Ind. J. Exp. biol. 24, 440-44.
17. Siebert, G., Malorite, R.V., Beyer, R., 1962. Verdauungsenzyme frischer gefangener Dorsche. Arch. Fischereiwiss. 13, 21-34.
18. Stirling, W., 1984. On the Ferments or Enzymes of the digestive Tract in Fishes J. Anat. Physiol. 18, 426-35.