



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI



**GÜMÜŞ BALIĞI (*Atherina boyeri*
RISSO,1810)'NDAN PROTEİN
HİDROLİZATI ÜRETİMİ, FONKSİYONEL
VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

İREM CEREN KIZILKÖY

DOKTORA TEZİ

KIRŞEHİR

2025



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI



**GÜMÜŞ BALIĞI (*Atherina boyeri*
RISSO,1810)'NDAN PROTEİN
HİDROLİZATI ÜRETİMİ, FONKSİYONEL
VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

İREM CEREN KIZILKÖY

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. MAHMUT YILMAZ

II. DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi ŞEFİK TEKLE

**KIRŞEHİR
2025**

KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZ ÇALIŐMASI
ETİK BEYANI

Kırşehir Ahi Evran Üni ve rsitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçesi ve sinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu,

Bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

25/08/2025

İrem Ceren KIZILKÖY

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa No

İÇİNDEKİLER DİZİNİ	I
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
TABLolar DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Balık Protein Hidrolizatının Üretim Yöntemleri.....	3
1.2. Balık Protein Hidrolizatların Kullanım Alanları.....	5
1.3. Balık Protein Hidrolizatlarının Biyoaktif Özellikleri	5
1.4. Balık Hidrolizatların Antioksidan Özellikleri.....	6
1.5. Balık Hidrolizatların Antimikrobiyal Özellikleri	6
1.6. Balık Hidrolizatların Antihipertansif Özellikleri	7
1.7. Balık Protein Hidrolizatlarının Fonksiyonel Özellikleri.....	8
1.8. Çözünürlük.....	8
1.9. Emülsiyon Özellikleri.....	8
1.10. Köpük Oluşturma Özellikleri.....	9
1.11. Yağ Bağlama Özellikleri.....	9
1.12. Amaç.....	9
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	11
3. MATERYAL VE METOT.....	15
3.1. Materyal.....	15
3.1.1. Enzimler	15
3.1.2. Ham Madde	15
3.2. Metot	17
3.2.1. Gümüş balıklarından protein hidrolizatı ve biyoaktif peptid üretimi.....	17
3.2.2. Hidroliz derecesi tespiti (%).....	20
3.2.3. Protein çözünürlüğü	20
3.2.4. Emülsiyon özellikleri	20
3.2.5. Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi	21
3.2.6. Yağ bağlama kapasitesi.....	21

3.2.7. Zetapotansiyel	21
3.2.8. Aktif-SH içeriği belirleme	22
3.2.9. Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisi ile analiz	22
3.2.10. Renk özelliklerinin belirlenmesi	23
3.2.11. Antioksidan kapasitesi belirleme	23
3.2.12. Antimikrobiyal özelliklerin belirlenmesi.....	23
3.2.13 İstatistiksel analiz.....	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1. Hidroliz verimi	25
4.2. Hidroliz Derecesi.....	25
4.3. Ham Protein Miktarı Analizi.....	26
4.4. Çözünürlük.....	27
4.5. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektroskopi Analizi.....	28
4.6. Köpük Kapasitesi ve Stabilitesi.....	31
4.7. Yağ Bağlama Kapasitesi.....	32
4.8. Emülsiyon Aktivitesi ve Stabilitesi	33
4.9. 2,2-Diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) Aktivitesi	35
4.10. Renk Analizi	36
4.11. Aktif-SH içeriği.....	37
4.12. Zeta potansiyel değerleri.....	38
4.13. Antimikrobiyal Özelliklerin Belirlenmesi	40
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR.....	45
EKLER	53
EK-1: Etik Kurul İzni.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	57

TEŞEKKÜR

Doktoraya başlamamda ve doktora sürecim boyunca akademik açıdan her zaman bana örnek olmalarının yanı sıra, desteklerini benden esirgemeyen değerli danışmanlarım Prof. Dr. Mahmut YILMAZ ve Dr. Öğr. Üyesi Şefik TEKLE ile TİK Üyesi Prof. Dr. Uğur ŞEN'e içtenlikle teşekkür eder, Őükranlarımı sunarım. Tezimin her aşamasında hem maddi hem de manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme de sonsuz teőekkürler.

Ağustos, 2025

İrem Ceren KIZILKÖY

ÖZET

DOKTORA TEZİ

GÜMÜŞ BALIĞI (*ATHERINA BOYERI* RISSO, 1810)'NDAN PROTEİN HİDROLİZATI ÜRETİMİ, FONKSİYONEL VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

İrem Ceren KIZILKÖY

KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Prof. Dr. Mahmut YILMAZ
Yıl: 2025 Sayfa: 57
Jüri: Prof. Dr. Hasan ÖNDER
Prof. Dr. Uğur ŞEN
Doç. Dr. Gökhan FİLİK
Doç. Dr. Ramazan YAZICI
İkinci Danışman Dr. Öğr. Üyesi Şefik TEKLE

Doğal yaşam alanı dışında yaşayan ve ekosisteme zarar veren istilacı balık türleri, değerli ürünlere dönüştürülmesi çevreye verdiği tahribatı azaltmak ve ekonomiye katkı noktasında önemli bir potansiyele sahiptir. Bu tez çalışmasında, karşılaştırma amaçlı Hirfanlı ve Yamula Baraj Gölü'nde istilacı tür olarak yaşayan gümüş balığından (*Atherine boyeri*) alkalaz, bromelain ve flavourzyme enzimi kullanılarak protein hidrolizat üretimi gerçekleştirilmiş, üretilen hidrolizatın fizikokimyasal, fonksiyonel ve biyoaktif özellikleri incelenmiştir. Hidroliz derecesi HGalc, HGbro, HGfla, YGalc, YGbro ve YGfla numunelerinde sırasıyla %10.90, %11.60, %7.61, %9.74, %11.04 ve %6.66 olarak tespit edilmiştir. Fonksiyonel özelliklerden emülsiyon kapasitesi (EAI) en yüksek 99.49 ± 0.48 m²/g, emülsiyon stabilite (ESI) değeri ise en yüksek 49.02 ± 0.80 dakika HGbro numunesine aittir. Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi en yüksek değer HGalc numunesinde olup sırasıyla 114.84 ± 2.82 ve 76.65 ± 1.51 olarak elde edilmiştir. Yağ bağlama kapasitesi, en düşük hidroliz derecesine sahip YGfla numunesinde en yüksek değerde gözlenmiş ve 3.75 ± 0.12 mL/g olarak hesaplanmıştır. Hidrolizatlar en düşük HGfla (%79.82) ve en yüksek HGalc (%97.69) arasında, çeşitli pH değerlerinde sürekli olarak yüksek çözünürlüğe sahip çıkmıştır. Sonuç olarak hidrolizatlarının çözünürlük, emülsifiye edici, köpük oluşturu ve yağ bağlama özellikleri ile gıda katkı bileşeni olarak potansiyel bir uygulama alanına sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Protein Hidrolizatı, Fonksiyonel Özellikler, Biyoaktif Özellikler, Gümüş Balığı

ABSTRACT

PhD THESIS

PRODUCTION OF PROTEIN HYDROLYSATE FROM SILVER FISH (*ATHERINA BOYERI* RISSO, 1810) AND DETERMINATION OF ITS FUNCTIONAL AND BIOACTIVE PROPERTIES

İrem Ceren KIZILKÖY

KIRŞEHİR AHİ EVRAN UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY

Supervisor: Prof. Dr. Mahmut YILMAZ
Year: 2025 Pages: 57
Juries: Prof. Dr. Hasan ÖNDER
Prof. Dr. Uğur ŞEN
Assoc. Prof. Dr. Gökhan FİLİK
Assoc. Prof. Dr. Ramazan YAZICI
Co-Supervisor Assist. Prof. Şefik TEKLE

Transforming invasive fish species that live outside their natural habitats and damage the ecosystem into valuable products has significant potential to reduce environmental damage and contribute to the economy. In this thesis, protein hydrolysate was produced from the invasive sand smelt (*Atherine boyeri*) in the Yamula Lake in Kayseri and the Hirfanlı Dam Lake in Kırşehir using alcalase, flavorzyme, and bromelain enzymes for comparative purposes. The physicochemical, functional, and bioactive properties of the produced hydrolysate were investigated. The degree of hydrolysis was determined as 10.90%, 11.60%, 7.61%, 9.74%, 11.04%, and 6.66% in the HGalc, HGBro, HGfla, YGalc, YGBro, and YGfla samples, respectively. Among the functional properties, the highest emulsion capacity (EAI) value was 99.49 ± 0.48 m²/g, and the highest emulsion stability (ESI) value was 49.02 ± 0.804 min. It belonged to the HGBro sample. The highest foaming capacity and stability values were obtained in the HGalc sample as $114.84 \pm 2.82\%$ and $76.65 \pm 1.51\%$, respectively. The highest oil binding capacity was observed in the YGfla sample, which had the lowest degree of hydrolysis, and was calculated as 3.75 ± 0.12 mL/g. The hydrolyzates had consistently high solubility at various pH values, between the lowest HGfla (79.82%) and the highest HGalc (97.69%). In conclusion, the solubility, emulsifying, foaming and oil binding properties of the hydrolyzates have a potential application as food additives.

Key Words: Protein Hydrolysate, Functional Properties, Bioactive Properties, Sand Smelt

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 4.1. Gümüş balığı hidrolizatlarının hidroliz verimi	25
Tablo 4.2. Gümüş balığı hidrolizatlarının protein miktarı	27
Tablo 4.3. Gümüş balığı hidrolizatlarının FTIR spektrumları (cm ⁻¹)	30
Tablo 4.4. Gümüş balığı hidrolizatlarının köpük kapasitesi.....	31
Tablo 4.5. Gümüş balığı hidrolizatlarının köpük stabilitesi	32
Tablo 4.6. Gümüş balığı hidrolizatlarının emülsiyon aktivite indeksi.....	34
Tablo 4.7. Gümüş balığı hidrolizatlarının emülsiyon stabilite indeksi	34
Tablo 4.8. Gümüş balığı hidrolizatlarının renk analizleri	37
Tablo 4.9. Gümüş balığı hidrolizatlarının antimikrobiyal değerleri (zon çapları).....	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 3.1. Yamula Baraj Gölü	16
Şekil 3.2. Hirfanlı Baraj Gölü	16
Şekil 3.3. İstilacı tür gümüş balığı ve iç organlarının uzaklaştırılması.....	16
Şekil 3.4. Balıktan protein hidrolizat üretimi akış diyagramı	18
Şekil 3.5. Gümüş balığı hidrolizatlarının toz hali (a:HGalc, b:HGBro, c:HGfla, d:YGalc, e:YGBro ve f:YGfla).....	19
Şekil 4.1. Gümüş balığı hidrolizatlarının hidroliz derecesi	26
Şekil 4.2. Hirfanlı Baraj Gölü gümüş balığı hidrolizatlarının çözünürlüğü.....	28
Şekil 4.3. Yamula Baraj Gölü gümüş balığı hidrolizatlarının çözünürlüğü.....	28
Şekil 4.4. Gümüş balığı hidrolizatlarının FTIR spektrumları	29
Şekil 4.5. Gümüş balığı hidrolizatlarının yağ bağlama kapasitesi	33
Şekil 4.6. Gümüş balığı hidrolizatlarının DPPH aktivitesi	36
Şekil 4.7. Gümüş balığı hidrolizatlarının toplam SH2 içeriği.....	38
Şekil 4.8. Hirfanlı Baraj Gölü gümüş balığı hidrolizatlarının zeta potansiyel değerleri	39
Şekil 4.9. Yamula Baraj Gölü gümüş balığı hidrolizatlarının zeta potansiyel değerleri	39

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
A	: 500 nm dalga boyundaki absorbans
°C	: Santigrat derece
g	: Gram
M	: Molar
mL	: Mililitre
mg	: Miligram
mA	: Miliamper
mM	: Milimolar
N	: Normalite
nm	: Nanometre
µL	: Mikrolitre
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
µm	: Mikrometre

Kısaltmalar	Açıklama
ABTS	: 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
ANS	: 8-Anilino-1-naphthalenesulfonic acid ammonium salt
DTDPA	: Ditioldipropiyonik asit
DPPH	: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
DLS	: Dinamik Işık Saçılması
DTNB	: 5,5' – Ditiobis – (2 – nitrobenzoik asit)
EAI	: Emülsiyon Aktivite İndeksi
ESI	: Emülsiyon Stabilite İndeksi
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kıızılötesi Spektroskopisi
HHL	: Hippuril-histidil-lösin
HA	: Hippurik asit
HCL	: Hidroklorik Asit
HD	: Hidroliz Derecesi
HGalc	: Hirfanlı Baraj Gölü gümüş balığı alkalaz hidrolizatı
HGbro	: Hirfanlı Baraj Gölü gümüş balığı bromelain hidrolizatı
HGfla	: Hirfanlı Baraj Gölü gümüş balığı flavourzyme hidrolizatı
NaOH	: Sodyum Hidroksit
N	: Azot
NH ₂	: Amin
PTFE	: Politetrafloroetilen
SDS	: Dedosil Sülfat Sodyum Tuzu
SH	: Aktif Sülfhidril
SDS-PAGE	: Sodyum Dedosil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi
YGalc	: Yamula Baraj Gölü gümüş balığı alkalaz hidrolizatı

YGbro : Yamula Baraj Gölü gümüş balığı bromelain hidrolizatı
YGfla : Yamula Baraj Gölü gümüş balığı flavourzyme hidrolizatı

1. GİRİŞ

Balık endüstrisi, dünya çapında birçok ülke için büyük bir ekonomik kaynaktır. Balık proteini, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, birçok insan için içerdikleri temel amino asitler nedeniyle önemli bir besin kaynağıdır. Dünya çapında bir milyar insanın geçim kaynaklarının balık üretme, işleme ve ticaretine bağımlı olduğu tahmin edilmektedir (Oosterveer, 2008). Küresel balık üretiminin 2020'de 178 milyon tona ulaştığı ve 2030 yılında 204 milyon tona ulaşacağı tahmin edilirken bu miktarın sadece 157 milyon tonu insan tüketimine uygundur, kalan 20 milyon ton, esas olarak balık unu ve balık yağı üretmek gibi gıda dışı kullanımlara yöneliktir (FAO, 2020). Balık işleme endüstrisi tarafından işlenen balıkların sadece %40'lık kısmı insan tüketimi için kullanılmaktadır. Deri, baş, iç organlar, karaciğer ve iskeletler olmak üzere %60'lık kısmı atık olarak değerlendirilmektedir (Dekkers ve ark., 2011). Bu büyük miktardaki balık yan ürünleri ve sofralık değeri olmayan hammaddelerin hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde ciddi kirlilik sorunları oluşturmaktadır. Bu ürünleri, hayvan yemi, balık unu ve gübre gibi düşük piyasa değeri olan ürünlere işlemek mümkün olmakla beraber, bu ürünler protein bakımından oldukça zengin olduğu için katma değeri daha yüksek nitelikli ürünlere işlenmesi mümkün görünmektedir (Hsu, 2010). Protein bakımından zengin balık işleme yan ürünlerin ve sofralık değeri olmayan hammaddelerin kullanımından yararlanılarak, insan sağlığının iyileştirilmesine yardımcı olacak temel besin maddelerini ve biyoaktif fonksiyonel bileşikler elde etmek için çeşitli biyoteknolojik sistemler geliştirilmiştir. Bu sayede aynı zamanda nitelikli katma değeri yüksek bir ürüne dönüştürmenin yanında çevre kirliliği riski de ortadan kaldırılmış olmaktadır. Özellikle istilacı tür özelliğinde olan balıklar bu noktadaki çalışmalarda büyük önem arz etmektedir. Belli bir ekosistemin doğal faunasında olmayıp, doğal bir engelin kaldırılması, gemilerle, balıklandırmayla veya kaza yoluyla bölgeye dışarıdan gelen yeni türlere istilacı türler denmektedir. Gelişmekte olan teknolojiler ile çeşitli coğrafik yerlerle yeni bağlantılar kurulması, birçok canlının bir ekosistemden diğer ekosisteme geçme hızını ciddi anlamda artırmıştır. Bu türler, farklı yollarla ulaştıkları yeni ekosistemlerde zararlara sebep olmaktadır. Yerel olmayan türlerin yeni alanlara taşınmaları ve yerleşmelerinin, popülasyonlar ve yerel türler üzerindeki potansiyel etkileri büyük ölçüde bilinmekte ve bu türler büyük ölçüde yerel türlerin yok olmalarından sorumludurlar (Polat ve ark., 2011, Çiçek ve ark., 2023). İstilacı balık türleri balıkçılık, balık yetiştiriciliği ve biyolojik çeşitlilik için önemli bir

tehdit oluşturmaktadır. Bu tehdit türlerin yaşam alanlarının istilası ve predasyon yoluyla gerçekleşmekte olup, yerel ve endemik türlerin hızla yok olmasına neden olabilmektedir (Yılmaz, 1997). Ülkemizde iç sularda 427 tür bulunduğu bilinmektedir (Çiçek ve ark., 2023). Ülkemizde bulunan bu zengin biyoçeşitliliği tehdit eden istilacı türlerden biri olan Gümüş balığı (*Atherina boyeri*), maximum 20 cm ulaşabilen gümüş renkli bir balık türüdür. Denizel bir tür olup genellikle kıyılarda ve lagünlerde ayrıca tuzlu bataklıklarda da yaşamaktadır (Çetinkaya, 2008). Gümüş balığı ufak kabuklular, solucanlar ve balık lavraları ile beslenerek fırsatçı etobur olarak kabul edilir (Antonucci ve ark., 2012). Ülkemizde gümüş balığının (*Atherina boyeri*) son yıllarda iç sularımızda yayılış alanını artırarak kalabalık popülasyonlar oluşturduğu dikkati çekmektedir (Kişisel, 2006). Tatlısularında (doğal ve baraj gölleri) bulunan gümüş balığı popülasyonları yüksek üreme başarısı göstererek hızla çoğalmakta ve bunun sonucunda boş pelajik nişleri işgal ederek baskın tür haline gelebilmektedir. Kısa yaşam süresi, erken eşeyssel olgunluğa erişme, uzun üreme periyodu gibi yaşam döngüsü özelliklerine bağlı olarak, bu balık türü Türkiye iç suları için ciddi bir istilacı olabilme potansiyeline sahiptir. Gümüş balığının zooplankton üzerindeki predasyon baskısı, ortamda yaşayan endemik türler ve ekonomik öneme sahip balık türleri ile rekabete girmesi halinde biyolojik çeşitlilik ve ekosistem üzerinde olumsuz etkilere yol açması söz konusudur. Örneğin Hirfanlı Baraj Gölü'ne sudak (*Sander lucioperca*), kadife (*Tinca tinca*), çakıl balığı (*Pseudorasbora parva*) ve gümüş balığı (*Atherina boyeri*) girişinden sonra yerel türlerden *Alburnus sp.*'ye günümüzde rastlanmaması yabancı türlerin ülkemizin doğal ihtiyofaunası üzerindeki olumsuz etkisinin bir örneğidir (Ekmekçi ve ark., 2010).

TÜİK verilerine göre 2023 yılı itibariyle 7046 ton gümüş balığı avlanmıştır (TUIK, 2025). Fakat avlanan miktarın resmi verilerden daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir. Gümüş balığı, küçük boylu olduğu için ülkemizde insan gıdası yönünden fazla önemi olmasa da bol miktarda avlandıklarında balık unu yapımında ve yetiştiriciliği yapılan balıklara yem olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca Avrupa Birliği ülkelerine dondurulmuş ve panelenerek dondurulmuş ürün olarak ihracı yapılmaktadır (Becer ve Bılgın, 2018). Bu ürünlerin işlenerek tüketime sunulma oranı giderek artmaktadır. Bu amaçla yapılan bilimsel çalışmalarda gümüş balıklarından marinat, balık cipsi, balık atıştırma malı, balık burger, fish finger ve kurutulmuş balık (El-Lahamy ve ark., 2018) üretimi çalışmaları yapılmıştır. Ülkemizde avlanmasıyla ilgili bir kısıtlama olmamasına ve yoğun bir şekilde avlanmasına rağmen gümüş balığının yayılımı giderek artmaktadır. Gerek doğal kaynaklarımızı ve biyoçeşitliliği korumak ve

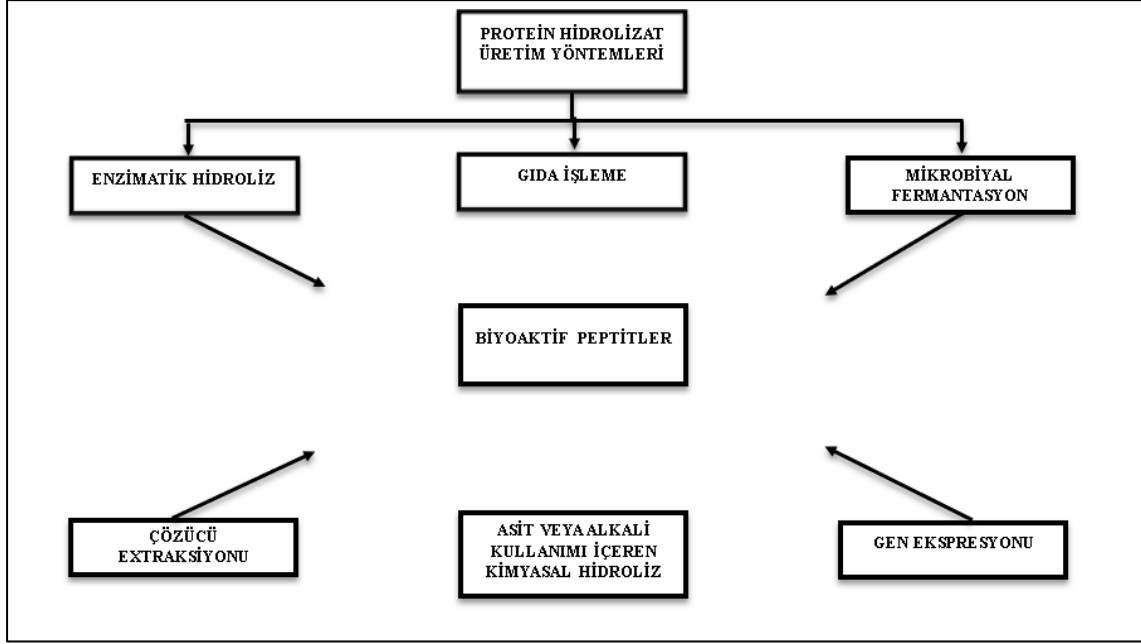
gerekse ülkemiz için katma değeri yüksek ihraç potansiyeli olabilecek yeni ürünlere kaynak teşkil etmesi açısından istilacı gümüş balıklarının değerlendirilmesi büyük önem arz etmektedir.

Ayrıca iklim ve çevre koşullarının balık yetiştiriciliği ve flora üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Örneğin küresel ısınma nedeniyle su sıcaklığında gerçekleşen değişimler aynı zamanda oksijen seviyesi, toksik alg çoğalmaları ve zararlılar, hastalıklar ve avcı balıkların yaygınlığı gibi diğer faktörlere de etki etmektedir (Atar ve Ataman, 2016). Benzer şekilde ılıman bölgelerde artan sıcaklıklar, sıcak su seven türler ile bu türlerin üremelerinde artış, büyüme oranlarında hızlanma ve daha uzun olgunlaşma dönemleri sağlarken, soğuk su seven türlerin ise soğuk bölgelere doğru göç etmesine neden olmaktadır. Bununla beraber deniz, göl ve nehir sularındaki sıcaklık, hastalık/zararlılarının artması, denizlerdeki zehirli alglerin ve asitleşmesinin artışı ve oksijen seviyesinde azalmalar, balıkların ölmesine yol açabilmektedir (Demircan, 2022). Dolayısıyla iklim ve çevre koşullarının farklı olduğu lokasyonlarda hem farklı türlerle karşılaşma ihtimali bulunmakta hem de aynı türlerin farklı özellikleriyle karşılaşma durumu söz konusu olabilmektedir. Bu kapsamda, Parmaksız ve ark. (2022) tarafından yapılan bir çalışmada Fırat ve Dicle Nehirler’inde yaşayan istilacı *Carassius gibelio* türünün amino asit profillerinin birbirinden farklı olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda da farklı lokasyon seçimiyle iklim ve çevre koşulları farklı olan iki baraj gölünden avlanmış gümüş balıklarının protein hidrolizatı içerikleri, fizikokimyasal, teknolojik ve biyoaktif özellikleri arasındaki farklılığın belirlenmesi ve bilimsel olarak değerlendirilmesi gerçekleştirilmiştir.

1.1. Balık Protein Hidrolizatının Üretim Yöntemleri

Balık protein hidrolizatı, nutrasötik ve gıda endüstrisinde kullanım için birçok fonksiyona sahiptir ve ısı ile yüksek basıncın kullanıldığı gıda işleme, mikrobiyal fermantasyon, çözücü ekstraksiyonu, rRNA aracılığı ile konak hücrelerdeki DNA dizisinin protein yapılarına dönüştürülmesi (gen ekspresyonu), asit veya alkali kullanımı içeren kimyasal hidroliz ve enzimler tarafından yapılan hidroliz prosesiyle gerçekleştirilmektedir (Şekil 1.1) (Tüysüz ve ark., 2019). Balık işleme yan ürünlerinden protein eldesi için enzim teknolojisinin kullanımıyla geniş spektrumlu gıda bileşenlerinin ve ya endüstriyel ürünlerin üretilmesi mümkün olabilmektedir (UG ve ark., 2019). Üretim yöntemlerinden en yaygın olanı ise avantajları fazla olduğu için enzimler tarafından gerçekleştirilen üretimdir. Enzimatik hidroliz; öngörülebilirliğinin fazla

olması, seçici ve özgün olması, çözünürlüğün artması, aminoasitlere verdiği hasarın az olması, yüksek verim ve stabilite sağlaması, köpük oluşturma ve emülsiyon özelliklerinin daha iyi hale gelmesi, kimyasal hidrolizata göre parametrelerin kontrol edilmesinin kolay olması, mikrobiyal fermantasyon yöntemine göre analizlerinin kolay yapılması ve elde edilen son üründe kimyasal kalıntı bırakmamasından dolayı en çok tercih edilen yöntemdir (Korhonen ve Pihlanto, 2006).



Şekil 1.1 Protein hidrolizat yöntemleri (Tüysüzve ark., 2019)

Protein hidrolizatları, proteinlerin enzimatik olarak daha küçük peptitlere parçalanması sonucu elde edilen ürünlerdir. Genellikle protein hidrolizatları 2-20 amino asit içeren kısa peptit zincirleridir (Tekle, 2022). Protein hidrolizatları, doğal proteinlerin enzimatik hidrolizi ile üretilir. Protein hidrolizi, peptit zincir uzunluğunu kısaltır ve böylece insan vücudunun çeşitli fizyolojik fonksiyonları için en elverişli amino asit kaynağı olan hidrolizatları üretmiş olur. Protein hidrolizatları, iyi fonksiyonel özelliklerinden dolayı insanlar ve hayvanlar için kolayca sindirilebilecek protein kaynağı olarak kullanılmaktadır (Bozkurt ve ark., 2021). Protein açısından zengin balık işleme atıklarının ve gıda kalitesi düşük proteince zengin yenilebilir balıkların verimli kullanımı, bu maddelerin balık proteini hidrolizatlarına dönüştürülmesiyle sağlanabilir (Neklyudov ve ark., 2000). Protein hidrolizatlarının üretiminde balık proteinlerini hidrolize etmek için birçok proteolitik enzim kullanılabilir. Bunlara alcalase, papain, pepsin, tripsin, α -kimotripsin, pankreatin, flavourzyme, pronase, neutrase,

protamex, bromelain, kryotin F, proteaz N, proteaz A, orientase, thermolysin ve validase örnek olarak verilebilir.

1.2. Balık Protein Hidrolizatların Kullanım Alanları

Protein hidrolizatları, protein bakımından zengin balık yan ürün atıklarından ve sofralık değeri olmayan yenilebilir çeşitli balıklardan elde edilmekte ve farmakoloji, gıda, kozmetik, tıp, biyomedikal, organik gübre yapımı ve hayvan gıdası da dâhil olmak üzere birçok alanda bu hidrolizatlar kullanılmaktadır (Chalamaiah ve ark., 2012). Hidrolizatlar, tat artırıcı, renk koruyucu ve asidik düzenleyici olarak ayrıca kıvam artırma, emülsiyon oluşturma ve su tutma gibi fonksiyonel özelliklerinden dolayı yapısal dayanıklılık sağlamada, kalite kaybını önlemede, ilaç kapsülleri ve vitamin ürünlerinde oksijen, karbondioksit gibi gazlar için bariyer görevi görmek ve ışığın zararlı etkisinden koruyarak besinlerin raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılabilir (Tekle, 2022). Protein hidrolizatları, protein ilavesi olarak, enerji içeceklerinde azot güçlendirici olarak, yaşlılık ürünlerinde, sporcuların beslenmesinde ve kilo-kontrolü diyetlerinde kullanılabilir. Klinik olarak ise, fenilketonüri (PKL), hipoallerjenik bebek formüllerinde, akut ve kronik karaciğer hastalıklarında, bağırsak sendromunda, ateşli bağırsak hastalığında, pankreasla ilgili hastalıklarda ve kolon ve rektumun iç çeperinde ülserlere ve bağırsak tahrişlerine neden olan hastalıklarda kullanılır. Ayrıca proteinler biyolojik olarak aktif peptitler üreterek hidrolize olabilmektedir. Doğrudan gıda bileşeni olarak kullanıldığında, protein hidrolizatları gıdanın teknolojik olarak işleme özelliklerini ve biyolojik değerini etkilemektedir (Erol ve ark., 2017).

1.3. Balık Protein Hidrolizatlarının Biyoaktif Özellikleri

Biyoaktif peptid; biyolojik ve fizyolojik olumlu fonksiyonu olan, doğal olarak bulunan ya da üretilen gıda kaynaklı protein parçalarıdır (Koç, 2016). Bu protein parçaları bitkisel, hayvansal, bakteriyel ve fungal kaynaklı olabilmektedir. Biyoaktif peptitler, sindirim, hormon, kalp-damar, bağışıklık ve sinir sistemini etkilemekte olup, bundan kaynaklı üretilen biyoaktif peptidlerin çoğu antihipertansif, antioksidan, antitrombotik, antimikrobiyal, antikanser, probiyotik ve immün sistem düzenleyicisi olarak çeşitli etkilere sahiptir (Kocazorbaz ve ark., 2020).

1.4. Balık Hidrolizatların Antioksidan Özellikleri

Sekonder metabolit olarak da adlandırılan antioksidan bileşikler, oksidan moleküllerin aşırı miktarda üretilmesi durumunda organizmaların doğal savunma sistemleri devreye girerek canlıyı bu durumdan kurtarmak için antioksidan bileşikler üretir. Antioksidanlar özellikle buldukları ortamdan başlatıcıları veya radikal ara maddeleri çıkararak oksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırır. Böylelikle oksidatif stresle bağlantılı hastalıklarla başa çıkmada önemli rol oynarlar. Antioksidanlar bu işleviyle insan sağlığını yönetebilen, hastalıkları önleyebilen ve tedavi edebilen doğal olarak üretilmiş biyoaktif bileşik olarak kullanılırlar. Diğer önemli rolü ise toksik bileşiklerin ve istenmeyen koku ve aromanın oluşumunu engellemek için gıdalarda oluşan lipid oksidasyonunu önlemek ve gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmak için fonksiyonel bileşenler olarak kullanılmasıdır (García-Moreno ve ark., 2014). Antioksidan bileşikler doğal (katalaz, bilirubin, E vitamini, flavonoid gibi) ve sentetik (bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA) gibi olarak sınıflandırılır. Doğal antioksidanlar; sentetik antioksidanlar toksisite gösterebileceği, yüksek maliyet gerektirdiği, yan etkilerinin olması ve etkisinin az olmasından dolayı daha çok tercih edilmektedir (Yavaşer, 2011). Doğal antioksidanlar bitki ve hayvanlardan elde edilmekte olup, bu amaçla balık atık/artıkları da kullanılabilir. Bu amaçla balık atık/artıklarından üretilen hidrolizatlardan elde edilen antioksidanlar ilaç, sağlıklı yiyecek, gıda işleme ve muhafaza sanayisi için sentetik antioksidanların yerini almaktadır. Balık hidrolizatlar *in vivo* ve *in vitro* olarak güçlü antioksidan aktivitesi göstermektedir (Babji ve ark., 2019).

1.5. Balık Hidrolizatların Antimikrobiyal Özellikleri

Antimikrobiyal özellik gösteren peptidler, çoğunlukla kısa zincirli katyonik peptidler olarak bilinen çok boyutlu özelliklere sahip çeşitli biyolojik olarak aktif moleküller grubudur. Antimikrobiyal bileşikler; bakteriler (gram negatif ve gram pozitif), funguslar veya virüsler gibi mikroorganizmaları öldüren ya da gelişmesini yavaşlatan dolayısıyla gıdaların raf ömürlerini uzatan moleküllerdir. Antimikrobiyal ilaçlar, insanlarda veya hayvanlarda mikroorganizmaların sebep olduğu hastalıkları tedavi etmek ya da önlemek için kullanılmakta olup, salgınların ve pandeminin ortaya çıkışıyla bu antimikrobiyal peptidlere duyulan ilgi her geçen gün artmaktadır. Özellikle bu bileşikler birçok hayvan türünün konak savunma sisteminin ilk hattında önemli yer tutmaktadır (Chandran ve ark., 2009). Antimikrobiyal bileşikler konak savunma

sisteminin ilk hattında etki mekanizmalarını, nükleik asit ve bakteriyel hücre çeperi oluşumunu inhibe ederek ve otolitik enzim sistemini teşvik ederek göstermektedir (Şimşek ve Kılıç, 2016). Bu mekanizmanın birincil en önemli adımı, antimikrobiyal peptidlerin hedef hücrel membranları tanınmasıdır. Bu peptidlerin katyonik bir yüke sahip olmaları ve hidrofobikliği sayesinde; anyonik lipitlerle, hedef hücrel membranda bulunan lipopolisakkarit ve teikoik asitler elektrostatik çekimi kolaylaştırır (Akbal ve Öner, 2021). Antimikrobiyal peptidlerin büyük bir kısmının antikanserojenik, mitojenik, bağışıklık modülatörü ve sinyal molekülü olarak etki gösterdiği görülmektedir (Pushpanathan ve ark., 2013). Doğal antimikrobiyal peptidler; bitki, hayvan ve mikroorganizmalar gibi farklı kaynaklardan elde edilmektedir. Özellikle balıklardan elde edilen antimikrobiyal peptidler; antitümör, konak savunma sistemi, bağışıklık sistemi ve adjuvanlar gibi az bilinen özelliklere sahip olduğu ve karasal ortamın aksine deniz ortamı düşük sıcaklık, yüksek basınç, tuzluluk gibi katı parametrelere daha uyumlu olduğu için balık antimikrobiyal peptidleri umut verici bir potansiyel teşkil etmektedir (Valero ve ark., 2020, Büyükkiraz ve Kesmen., 2022).

1.6. Balık Hidrolizatların Antihipertansif Özellikleri

Yüksek kan basıncı, atardamar adı verilen küçük kan damarlarının daralması sonucu kanın damar duvarına daha fazla basınç yapmasıyla oluşur. Daralan damardan kanın geçebilmesi için kalp daha fazla çalışır ve genellikle kalp yetmezliği sorunu ortaya çıkar. Yüksek kan basıncı kalp dışında birçok organa da zarar vermektedir. Kısacası yüksek tansiyon birçok hastalığı beraberinde getirmektedir (Eroğlu, 2016). Günümüzde yüksek tansiyonunun tedavisinde anjiyotensin-dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri, beta-blokörleri ve kalsiyum kanalı bloke edicileri gibi birçok ilaç bulunmaktadır. Fakat bu ilaçların oldukça fazla yan etkileri olup hastanın yaşam kalitesini düşürmektedir (Batıbay, 2020). Bu yüzden doğal ilaç ya da etken madde üzerine yapılan çalışmalar artmıştır. Doğal olarak antihipertansif etkene sahip madde; süt ve süt ürünlerinden, soya, bezelye, mercimek gibi bitkisel proteinlerden, alglerden ve balık atıklarından elde edilmektedir. Balık atıklarından elde edilen peptidler çok farklı şekilde etkileşime girerken, ilaçlar ACE'nin etkisine müdahale ederek ayırım yapmaksızın ACE'yi bloke eder. Bu yüzden balık peptidleri daha çok tercih edilmektedir (Ishak ve Sarbon, 2018).

1.7. Balık Protein Hidrolizatlarının Fonksiyonel Özellikleri

Fonksiyonel özellikler, gıda sistemlerindeki proteinlerin işleme, depolama ve tüketim sırasında genel fizikokimyasal özellikleri olarak tanımlanır. Bu özellikler aynı zamanda besinin niteliğini ve duyuşal özelliklerini de şekillendirir (Kinsella, 1981). Bir proteinin fonksiyonel özelliklerini; biçim, boyut, aminoasit yapısı ve dizisi, net yüklerin dağılımı, proteinin ikincil, üçüncül ve dördüncül yapıları, pH, sıcaklık, nem, enzim ve kimyasal katkı maddeleri etkiler (Massoud ve ark., 2017).

1.8. Çözünürlük

Çözünürlük gıda sanayisini ve emülsiyon, köpürme gibi fonksiyonel özellikleri etkilediği için protein ve proteinden elde edilen hidrolizatın işlevselliğinde önemli bir role sahiptir. Hidrolizatın çözünürlüğünü etkileyen ana etmenler hidrofobik ve iyonik etkileşimdir. Hidrofobik etkileşimler protein-protein interaksyonunu tetikler ve çözünürlüğün azalmasına sebep olur. İyonik etkileşimler ise protein-su interaksyonunu tetikler ve çözünürlüğün artmasına sebep olur (Kristinsson ve Rasco, 2000b). Hidrolizatların artan çözünürlüğü, parçalanmamış proteine kıyasla daha küçük moleküler boyutlarda olmasından ve hidrofobikliği artıran aminoasitlerin yeni salınan iyonize edilebilir amin ve karboksil gruplarından kaynaklanmaktadır (Tekle, 2022).

1.9. Emülsiyon Özellikleri

Emülsiyon, yağ ve su gibi birbirine karışmayan iki sıvının termodinamik olarak dayanıklı olmayan karışımı olarak ifade edilebilir (Okutan ve Boran, 2023). Proteinlerin emülsiyon özellikleri için emülsiyon kapasitesi, stabilitesi ve aktivitesi ele alınmaktadır. Emülsiyon kapasitesi, protein çözeltisinin ya da süspansiyonunun yağ emülsifiye etme yeteneğidir ve birim proteinin özel koşullarda faz in versiyonu gerçekleşmeden bağlayabileceği yağ miktarı olarak tanımlanmaktadır. Emülsiyon stabilitesi; bir emülsiyonun zaman içerisinde meydana gelebilecek olan, damlacıklarda tabaka oluşumu veya damlaların birleşme esnasında şekillenmesi gibi değişikliklerle bulanıklık oluşturmadan direnme kapasitesidir. Emülsiyon aktivitesi ise; proteinin emülsiyon oluşturmaya katkıda bulunabilme yeteneğidir (Özcan ve Delikanlı, 2011). Balık protein hidrolizatlarının emülsifikasyon özelliği, doğrudan proteinin yağ-su ara yüzeyindeki adsorbisyonu ile bağlantılı olup, besindeki hidrofilik ve hidrofobik bileşenler arasındaki bu ara yüzey geriliminin etkin bir şekilde azaltılma kapasitesi olarak ifade edilebilir (García-Moreno ve ark., 2017). Sistemin temeli, homojenizasyon sırasında oluşan yağ

damlacığının yüzeyine tutunan peptidlerin koruyucu bir film oluşturarak onların birbirleriyle etkileşimlerini engelleyerek bariyer etkisi göstermesi ve dayanıklılığı sağlamasıdır (Koç, 2016).

1.10. Köpük Oluşturma Özellikleri

Köpük, sıvı veya katıdan meydana gelen sürekli fazın hava damlacıklarını çevrelemesi ile oluşan yapıdır (Yavuz ve Özçelik, 2016). Su molekülleri nispeten polar olmayan hava ile temas zorlandığında daha düzenli olma eğilimindedirler ve bu da yüksek bir yüzey gerilimi ve yüksek bir yüzey enerjisi ile sonuçlanır. Hidrolize proteinler su-hava ara yüzeyindeki oluşan bu gerilimi düşürerek köpük oluşumunu sağlarlar. Proteinlerin hava kabarcığı yüzeyine tutulmasıyla kısmi denatüre olmuş proteinler bir tabaka oluşturur böylece hava kabarcıklarının bir araya gelmesi engellenir ve köpük yapısı korunur. Proteinlerin köpük oluşturma özellikleri incelenirken köpük kapasitesi ve köpüğün stabilitesi en fazla kullanılan parametrelerdendir (Fligner ve Mangino, 1991).

1.11. Yağ Bağlama Özellikleri

Yağ bağlama kapasitesi, proteinlerin gıda üretim sistemindeki önemli bir fonksiyonel özelliklerinden biridir ve bir proteinin yağı tutabilme yeteneğini, ayrıca onu proteinin matrisinde yerçekimi kuv ve tıne karşı koruyabilme becerisini ifade etmektedir (Tekle, 2022). Yağı tutabilme mekanizması çoğunlukla yağın fiziksel sıkışmasına bağlı olduğu için kütle yoğunluğuna, ayrıca hidroliz derecesine, enzim ve substratın özgüllüğüne bağlıdır (Sathivel ve ark., 2004). Yağ bağlama kapasitesi, çeşitli gıdalarda önem arz eden tat özelliğini etkilediği için et ve şekerleme endüstrilerinde önemlidir (Sathivel ve ark., 2005).

1.12. Amaç

Tez çalışmamızda, istilacı bir tür olan Gümüş balığından (*Atherina boyeri*) biyoaktif özelliklere sahip protein hidrolizatları üretilmiş ve bu hidrolizatların fizikokimyasal (protein içeriği, zeta potansiyeli, FTIR analizi ve aktif-SH içeriği.), teknolojik (çözünürlük, emülsiyon kapasitesi, köpük oluşturma, yağ bağlama kapasitesi) ve biyoaktif (antioksidan ve antimikrobiyal) özellikleri detaylı olarak incelenmiştir. Yapılan literatür taramalarında; gerek Türkiye’de, gerekse uluslararası alanda istilacı balık türlerinden hidrolizat üretimine yönelik kapsamlı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu kapsamda, farklı iklim ve çevresel koşullara sahip iki farklı lokasyondan – Kayseri Yamula ve Kırşehir Hirfanlı Baraj Göllerinden – temin edilen gümüş balıkları, üç farklı enzim (alkalaz, flavourzyme ve bromelain) kullanılarak hidrolize edilmiştir. Böylece hem istilacı türlerin değerlendirilmesi hem de sürdürülebilir biyoaktif madde üretimi açısından çevresel ve endüstriyel katkı sağlayabilecek potansiyel bir kaynak olarak değerlendirilmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Quaglia ve Orban (1990) tarafından yapılan çalışmada alkalaz enzimi kullanılarak sardalyadan (*Sardina pilchardus*) protein hidrolizatı üretilmiştir. Üretilen hidrolizatın yüzey hidrofobikliği, moleküler ağırlığı ve emülsifiye edici özellikleri araştırılmıştır. Sonuçlar doğrultusunda hidroliz derecesi düşük olan hidrolizatların daha yüksek emülsifiye aktivitesi ve yüzey hidrofobikliği gösterdiği bildirilmiştir.

Klompong ve ark. (2007) tarafından yapılan bir alkalaz ve flavourzyme kullanarak *Selaroides leptolepis* (Yellowstripe scad) balığının etinden ürettiği protein hidrolizatın antioksidan aktivitesini ve fonksiyonel özellikleri araştırılmıştır. Hidroliz derecesi arttıkça antioksidan aktivitesinin azaldığını, kullanılan her iki enzimde hidroliz derecesinin artması ile metal şelatlama aktivitesinin yükseldiği ($P<0.05$) fakat emülsiyon aktivitesi ve stabilitesinin, köpürme aktivite ve stabilitesinin azaldığı ($P<0.05$) bildirilmiştir.

Souissi ve ark. (2007) yılında Sardinella (*Sardinella aurita*) balığından alkalaz enzimi kullanılarak %6.62, %9.31 ve %10.16 hidroliz derecelerine sahip hidrolizat üretilmiştir. Hidroliz derecesi arttıkça, emülsiyon kapasitesinde azalma; buna karşılık çözünürlükte artış gözlenmiştir. Özellikle, %10.16'lık bir hidroliz derecesinde %100 çözünürlüğe ulaşıldığı belirlenmiştir. Antioksidan aktivitesi ise %6.62 hidroliz derecesinde %51, %9.31 hidroliz derecesinde %55.46 ve %10.16 hidroliz derecesinde %59 olarak tespit edilmiştir.

Bhaskar ve Mahendrakar (2008) tarafından yapılan çalışmada Hint tatlı su büyük sazanından (*Catla catla*) nötr proteaz kullanılarak protein hidrolizatı elde edilmiştir. Elde edilen hidrolizatın hidroliz derecesinin %48 üzerinde olduğunu bildirilmiştir.

Geirsdottir ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada, derinsu mezgitinden (*Micromesistius poutassou*) alkalaz enzimi kullanılarak üretilen hidrolizatın fonksiyonel ve biyokimyasal özellikleri analiz edilmiştir. Hidrolizatın farklı hidroliz derecelerinde (%2.5, %5, %10 ve %15) kimyasal bileşimi, çözünürlüğü, yağ bağlama kapasitesi ve emülsiyon aktivite indeksi önemli derecede farklıyken ($P<0.05$); emülsiyon stabilite indeksindeki bu farklılığın önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Ayrıca hidroliz derecesi arttıkça protein çözünürlüğünün arttığını bildirilmiştir.

Amiza ve ark. (2012) yılında Cobia (*Rachycentron canadum*) balığından alkalaz enzimi kullanılarak hidrolizat üretimi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen hidrolizatın 3 farklı hidroliz derecesinde (%53, %71 ve %96) fizikokimyasal özelliklerinin analizi

gerçekleştirilmiştir. Hidroliz derecesi en düşük olan HD53 örneğinde köpürme kapasitesi en yüksek değerde (%122.7), hidroliz derecesi en yüksek olan HD96 örneğinde ise en düşük köpürme kapasitesi (%117) tespit edilmiştir. Ayrıca HD53 örneği en açık ve en az sarımsı rengi ve rirken, HD96 örneği en koyu ve en sarımsı rengi ve rmiştir.

Tanuja ve ark. (2012) yılında çizgili yayın balığından (*Pangasiamodon hypophthalmus*) bromelain kullanılarak hidrolizat elde edilmiştir. Hidrolizatın fonksiyonel özelliklerinin ve antioksidan aktivitesinin analizi yapılmıştır. Üretilen hidrolizat neredeyse %90 radikal süpürme kapasitesi sergilemiştir. Aynı zamanda köpük kapasitesi %17.33, emülsiyon kapasitesi 85.41 ml yağ/200 mg hidrolizat, çözünürlüğü %64.92 ve yağ bağlama kapasitesi 1.35 ml yağ/ mg hidrolizat olarak tespit edilmiştir.

Shamloo ve ark. (2012) yılında kırmızı tilapia (*Oreochromis niloticus*) balığından alkalaz ve flavourzyme enzimi kullanılarak protein hidrolizatı elde edilmiştir. Elde edilen hidrolizatın biyokimyasal özellikleri analiz edilmiştir. Alkalaz kullanılarak üretilen hidrolizatın hidroliz derecesi %20.1 iken flavourzyme kullanılarak üretilen hidrolizatın hidroliz derecesi %11.3 olarak tespit edilmiş olup, iki enzim arasında önemli fark görülmüştür ($P<0.05$). Ayrıca alkalaz ile elde edilen hidrolizatın önemli ölçüde DPPH aktivitesi gösterdiği saptanmıştır ($P<0.05$).

Elavarasan ve ark. (2014) yılında Su sazanı (*Catla catla*) balığından alkalaz, bromelain ve flavourzyme enzimi kullanılarak protein hidrolizatı üretilmiştir. Üretilen hidrolizatların hidroliz dereceleri, alkalaz için %6.70, bromelain için %10.62 ve flavourzyme için %7.80 olarak belirlenmiştir. Hidrolizat ve rimleri ise sırasıyla %6.60, %8.76 ve %5.44 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, serbest radikal süpürücü kapasite açısından en yüksek aktivite bromelain enzimiyle elde edilirken, bunu flavourzyme ve en düşük değerle alkalaz takip etmiştir. EAI değeri alkalaz 5.16 m²/g, bromelain 12.57 m²/g ve flavourzyme 18.28 m²/g değerinde tespit edilmiş olup enzimler arasında önemli bir farklılık gözlenmiştir. Flavourzyme ve bromelain enzimlerinin köpürme kapasiteleri, alkalaza göre daha yüksek bulunmuştur.

Jiang ve ark. (2014) yılında Gümüş sazanı (*Hypophthalmichthys molitrix*) balığından flavourzyme enzimi kullanılarak protein hidrolizatı elde edilmiştir. Elde edilen hidrolizatın aminoasit kompozisyonu Aspartat, Glutamat, Lizin yoğun olmak üzere Serin, Glisin, Histidin, Arjinin, Treonin, Alanin, Prolin, Tirozin, Valin, Metiyonin, Sistein, İzolösin, Lösin ve Fenilalanin şeklinde ifade edilmiştir. Ayrıca üretilen hidrolizatın antimikrobiyal aktivitesini analiz etmek için *Staphylococcus aureus*

ve *Escherichia coli* bakterileri kullanılmıştır. Kullanılan iki bakteriye karşı da antimikrobiyal aktivite sergilemiştir.

Thuy ve ark. (2015) Asya kedi balığından (*Pangasius hypophthalmus*) enzimatik hidroliz yöntemi ile elde edilen hidrolizatın hidroliz süresi, köpürme ve emülsifiye edici özelliğini araştırmışlardır. Hidroliz derecesinin, hidroliz sırasında süre ile doğrusal arttığını tespit etmiştir. 150 dakikalık hidroliz sürecinde; 75. dakikada emülsifiye aktivitesinin maksimum değerde olduğunu, 75. dakikadan sonra ise bu değer azaldığını ayrıca hidroliz derecesinin en yüksek değerde (%26.51) olduğu anda emülsifiye aktivitesinin en düşük olduğu tespit edilmiştir. Köpürme yeteneğinin ise 90 dakikalık hidroliz süresinde maksimum değere ulaştığı (%94.59), 90-150 dakika aralığında hidroliz derecesinin artarken, köpük yeteneğinin %94.59'dan %39.02'ye düştüğü tespit edilmiştir.

Yathisha ve ark. (2021) yılında Şerit balığının (*Lepturacanthus savala*) kas ve organ atıklarından üç farklı enzim (alkalaz, flavourzyme, papain) kullanılarak protein hidrolizatı üretilmiştir. Kas ve organ atıklarından elde edilen hidrolizatların ACE inhibitör aktiviteleri, alkalaz ile sırasıyla %71.38 ve %76.41; flavourzyme ile % 49.38 ve %45.38; papain ile ise %51.99 ve %53.38 olarak belirlenmiştir. ACE inhibitör aktivitesini en yüksek alkalaz göstermiş olup DPPH radikal temizleme aktivitesini de benzer şekilde en yüksek alkalaz enzimi göstermiştir.

Hasani ve ark. (2022) Hint uskumru (*Rastrelliger kanagurta*) balığından alkalaz ve flavourzyme kullanılarak hidrolizat üretilmiş ve biyoaktif özellikleri analiz edilmiştir. Üretilen hidrolizatın DPPH radikal süpürme aktivitesinin, hidroliz süresinin artmasıyla birlikte yükseldiği gözlemlenmiştir. Alkalaz ile elde edilen hidrolizatın DPPH aktivitesi %90.42 olarak belirlenmiş ve flavourzyme ile elde edilen hidrolizattan daha yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda ferrik iyonların indirgeyici gücünün de hidroliz süresinin artmasıyla arttığı gözlemlenmiş ve hidrolizatın antioksidan aktivitesinin alkalaz ile en yüksek değere ulaştığı (0.37 $\mu\text{mol Fr/g}$) tespit edilmiştir.

Alahmad ve ark. (2023) yılında büyük kafalı sazan balığından (*Hypophthalmichthys nobilis*) flavourzyme enzimi kullanılarak protein hidrolizatı elde edilmiştir. Elde edilen hidrolizatın, 1,3 ve 6 saatlik hidroliz sürecinde hidroliz derecesinin sırasıyla %16.56, %22.23 ve %25.48 olarak arttığı gösterilmiştir. Hidrolizatın FTIR analizi; hidroliz derecesi %16.56 iken 1521 cm^{-1} (amide I), 1457 cm^{-1} (amide II) ve 1392 cm^{-1} (amide III) değerleri, hidroliz derecesi %22.23 iken 1575 cm^{-1} (amide I), 1455 cm^{-1} (amide II) ve 1393 cm^{-1} (amide III) değerleri ve hidroliz

derecesi %25.48 iken 1575 cm^{-1} (amide I), 1457 cm^{-1} (amide II) ve 1394 cm^{-1} (amide III) değerleri tespit edilmiştir. Çalışmada bu değerlerin önemli derecede dalga boyu ile gösterildiği gibi proteinin sekonder yapısını etkilediği bildirilmiştir.

Kvangarsnes ve ark. (2023) yılında Gökkuşağı alabalığıdan (*Oncorhyncus mykiss*) bromelain kullanılarak hidrolizat elde edilmiştir. Hidrolizatın fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikleri çalışılmıştır. Üretilen hidrolizatın hidroliz derecesi %17.24 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca hidrolizatın rengi L* parlaklık değeri 90.60, a* (kırmızı-yeşil) değeri -0.43 ve b* (sarı-mavi) değeri 13.47 olarak saptanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Enzimler

Araştırmada enzim olarak, daha önce başarılı sonuçlar elde edildiği çeşitli çalışmalarla tespit edilmiş olan alkalaz (≥ 0.75 Anson units/mL), bromelain (≥ 3 units/mg protein) ve flavourzyme (500-1000 LAPU/g) enzimleri kullanılmıştır (Blanco ve ark., 2017). Alkalaz *Bacillus lincheniformis* bakterisinden üretilen serin endopeptidaz, bromelain *Ananas comosus* bitkisinden üretilen sistein proteaz ve flavourzyme *Aspergillus Oryzae* mantarından elde edilen yüksek oranda ekzopeptidaz olup endopeptidaz özellikte bir enzimdir (Masniar ve ark., 2016; Nadzri ve ark., 2021; Nilsang ve ark., 2005). Bu enzimlerden alcalase ve bromelain Sigma-Aldrich, flavourzyme ise Novozymes firmalarından satın alınmıştır.

3.1.2. Ham Madde

şekil 3.1 ve 3.2’de görseli verilen Yamula ve Hirfanlı Baraj Glleri’nde yaşayan ve istilacı bir tür özelliğinde olan Gümüş Balığı’nın (*Atherina boyeri*) temini, avlanma yöntemiyle elde eden firmalardan sağlanmıştır.

Hirfanlı Baraj Gölü, Kırşehir ili sınırları içerisinde Kızılırmak nehri üzerinde bulunmakta olup; 1953 yılında inşaatına başlanmıştır. Baraj işletmeye 1959 yılında açılmıştır. Elektrik enerjisi, taşkın kontrolünü sağlamak vb. Hirfanlı Baraj Baraj Gölü’nün kurulum amaçlarından birkaçını oluşturur (Saylar ve ark., 2014).

Yamula Barajı ve Hidroelektrik Santrali (HES) ise Kayseri’nin Kocasinan ilçesi Yemliha mevkiinde, Kızılırmak zerindedir. Ayen Enerji bağlı ortağı olan Kayseri Elektrik retim San. ve Tic. A.ř. tarafından işletilen santral 100 MWe kurulu gücü ile Kayseri’nin en büyük; Türkiye’nin ise 154. enerji santralidir (Kılıçaslan ve ark., 2008).



Şekil 3.1. Yamula Baraj Gölü



Şekil 3.2. Hirfanlı Baraj Gölü

Gümüş balıkları Mart, Nisan ve Mayıs aylarında araştırma için temin edilmiştir. Soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılan Gümüş balıklarının iç organları pens yardımı ile temizlenmiştir. Temizlenen balıklar (Şekil 3.3) kaba kirleticilerden arındırılmak amacıyla yıkanmış, süzölmüş ve her biri 500 g olacak şekilde paketlenip dondurulmuştur. Hidrolizat üretimi için balıklar, 24 saat buzdolabında (+4°C) tutularak çözündürülmüştür.

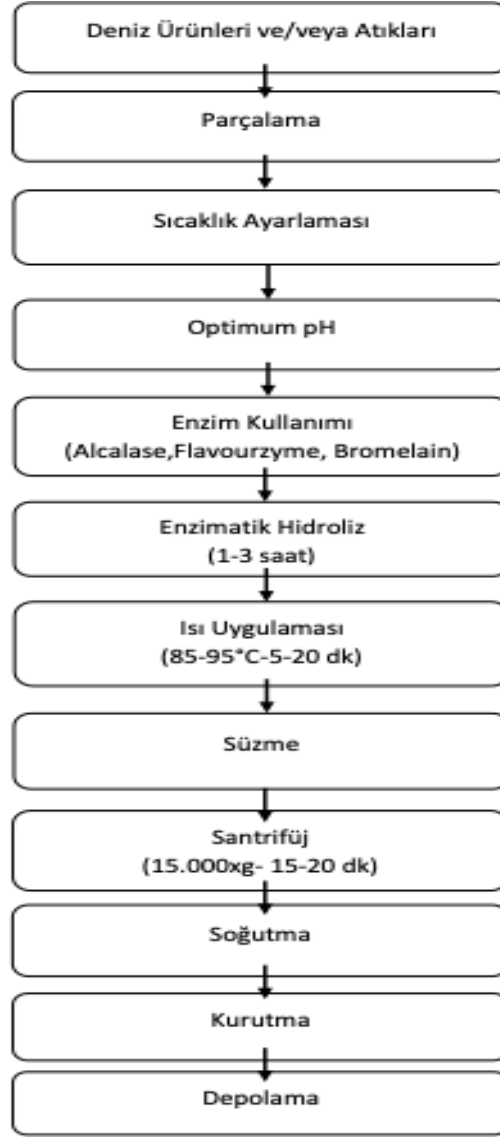


Şekil 3.3. İstilacı tür gümüş balığı ve iç organlarının uzaklaştırılması

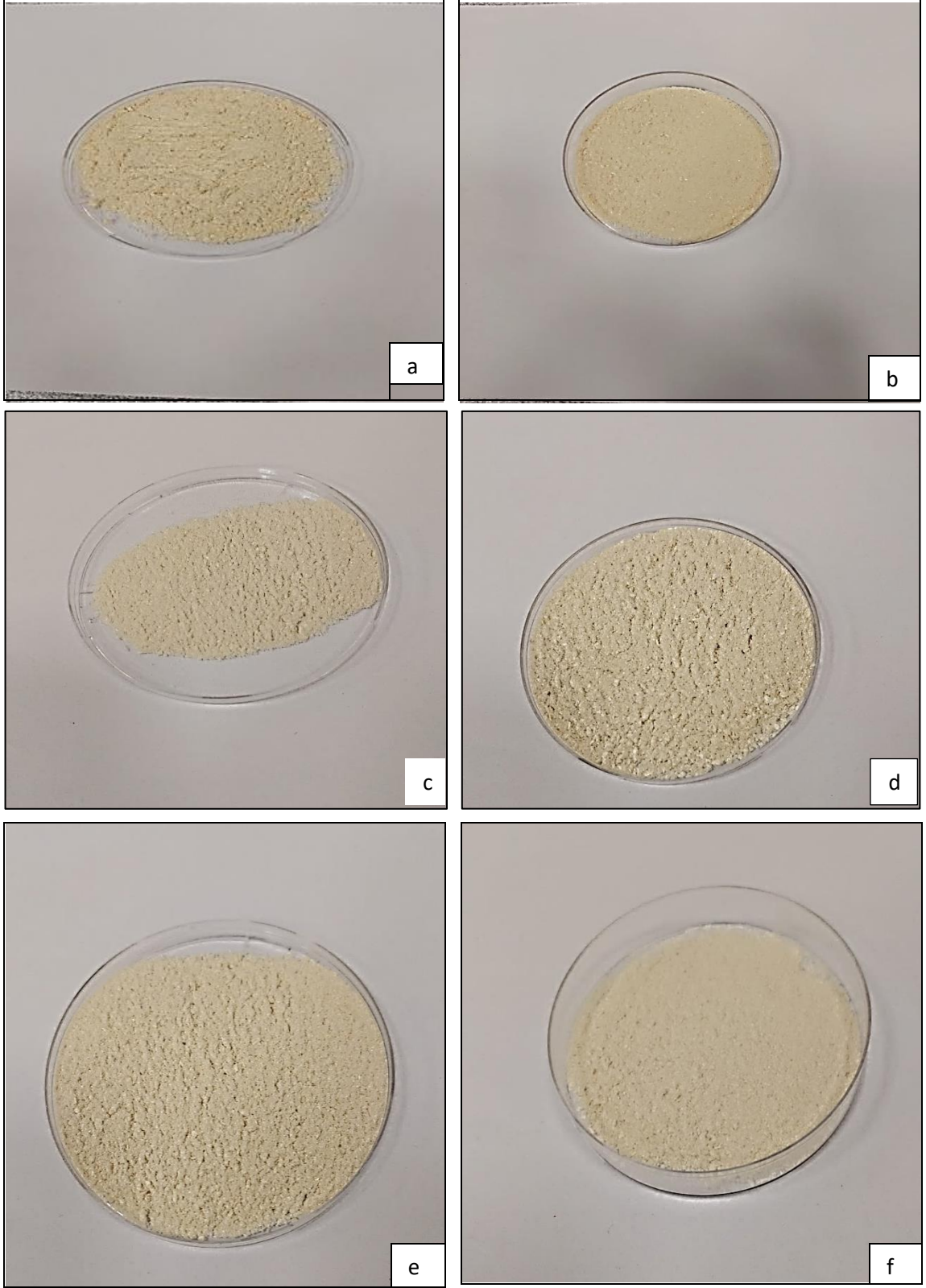
3.2. Metot

3.2.1. Gümüş balıklarından protein hidrolizatı ve biyoaktif peptid üretimi

Kıyma makinesinde öğütülen balıklar, 1:3 (ağırlık/hacim) katı kısım/sıvı kısım oranıyla distile su ile karıştırılmıştır. Enzimlerin optimum pH ve sıcaklık değerleri, enzim üreticilerinin spesifikasyonları ve literatürdeki çalışmalar dikkate alınarak alcalase enzimi için pH 8.0'e (60°C), bromelain enzimi için pH 7.0'ye (50°C), flavourzyme için pH 7.0'ye (50°C) 1 M NaOH ya da HCl ile ayarlanmıştır. Ön denemelerde belirlenen protein içeriği dikkate alınarak %1 enzim katılarak hidroliz işlemi başlatılmıştır. Benzer şekilde ön denemeler sonucunda belirlenen ve hidroliz derecesinde önemli düzeyde değişikliğin olmaması nedeniyle 3 saatlik enzimatik hidroliz işlemi uygulanmıştır. Sonrasında kaba filtre ile büyük atıklar uzaklaştırılmış ve santrifüjleme (15.000x g' de 20 dk) işlemi gerçekleştirilmiştir. Enzim inaktivasyonu için 90°C' de 20 dakika süreyle ısıl işlem uygulanmış ve hidrolizat liyofilize edilerek kuru toz halinde depolanmıştır (Şekil 3.4 ve 3.5) (Valcarcel ve ark., 2020).



Şekil 3.4. Balıktan protein hidrolizat üretimi akış diyagramı (Valcarcel ve ark., 2020)



Şekil 3.5. Gümüş balığı hidrolizatlarının toz hali (a:HGalc, b:HGbroy, c:HGfla, d:YGalc, e:YGbroy ve f:YGfla)

HGalc: Hirfanlı Baraj Gölü gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGbro: Hirfanlı Baraj Gölü gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGfla: Hirfanlı Baraj Gölü gümüş balığı flavourzyme enzimi ile elde edilen hidrolizat. YGalc: Yamula Baraj Gölü gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGbroy: Yamula Baraj Gölü gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGfla: Yamula Baraj Gölü gümüş balığı flavourzyme ile elde edilen hidrolizat

3.2.2. Hidroliz derecesi tespiti (%)

Hidroliz derecesinin belirlenmesinde pH stat metodu kullanılmıştır (Adler-Nissen, 1986). pH stat yöntemi, reaksiyon sırasında açığa çıkan veya tüketilen hidrojen iyonları nedeni ile değişen pH değeri sabit tutmak için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem ile hidroliz derecesi, hidroliz reaksiyonu sırasında serbest hale geçen protonların ototitrasyonu esnasında ortama ila ve edilen baz miktarı ölçülerek belirlenmiştir. Hidroliz derecesi, parçalanmış peptid bağlarının (h) birim ağırlık başına toplam bağ sayısına (h_{tot}) oranı olarak tanımlanır. Hidroliz derecelerinin hesaplanmasında aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır.

$$\text{Hidroliz Derecesi (\%)} = (h \times 100) / h_{tot} = (B \times N_b \times 100) / (\alpha \times M_p \times h_{tot}) \quad (3.1)$$

B: Baz Miktarı

Nb: Baz Normalitesi

α : α -NH₂ gruplarının ortalama ayrılma sabiti

Mp: Protein miktarı (g)

h_{tot} : Toplam peptid bağları (meqv/g protein)

3.2.3. Protein çözünürlüğü

Balık hidrolizatın protein çözünürlüğü, American Oil Chemists Society tarafından bildirildiği şekilde belirlenmiştir (Firestone, 1989). Hidrolizatlar saf su içerisinde çözdürülmüş; çözeltilerin pH'sı, sürekli karıştırılarak 45 dakika boyunca 0.5 N NaOH ve ya 0.5 N HCl ile 3, 5, 7 ve 9'a ayarlanmıştır. Çözeltiler daha sonra 2.800x g' de 30 dakika boyunca santrifüj (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Almanya) edilmiştir. 15 mL süpernatant içindeki N içeriği, Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiştir.

$$\text{Protein çözünürlüğü (\%)} = \text{Süpernatant protein içeriği} / \text{toplam protein içeriği} \quad (3.2)$$

3.2.4. Emülsiyon özellikleri

Balık hidrolizatlarının emülsiyon oluşturma özelliği olarak emülsiyon aktivite indeksi (EAI) ve emülsiyon stabilite indeksi (ESI) belirlenmiştir. 90 mg numuneye 9 mL PBS sıvısı konulmuş ve karıştırıcı yardımıyla yüksek hızda karıştırılarak homojenize edilmiştir. Sonrasında 3 mL ayçiçek yağı eklenmiştir. Numuneler 18.000 g'de 1 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Homojenizasyondan sonra 0 ve 10. dakika sonunda karışımdan alınan 50 μ L emülsiyon, %0.1 (w/v) dedosil sülfat sodyum tuzu (SDS) ile 5 mL' ye seyreltilmiştir. Seyreltilen solüsyonların absorbansı spektrofotometre ile 500 nm dalga boyunda okunmuştur. EAI ve ESI değerlerinin hesaplanması için okunan

absorbanslar (A_0 ve A_{10}), aşağıdaki eşitliklerde kullanılmıştır (Zamorano-Apodacave ark., 2020).

$$EAI (m^2/g) = (2 \times 2,303 \times 100 \times A) / (c \times 0,25 \times 10.000)$$

$$ESI (dk) = (A_0 \times 10) / (A_0 - A_{10}) \quad (3.3)$$

A = 500 nm dalga boyundaki absorbans

c = protein konsantrasyonu (g/mL)

3.2.5. Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi

Köpük kapasitesi ve köpük stabilitesi, Zamorano-Apodaca ve ark. (2020)' nın kullandığı yöntemde küçük değişiklik yapılarak belirlenmiştir. Saf su ile hazırlanan %0.5 w/v hidrolizat çözeltisinden 10 mL alınmış ve homojenizatör (VELP OV5 Homojenizer, İtalya) cihazı kullanılarak 14.000 x g' de oda sıcaklığında 1 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Toplam köpük hacmi, homojenizasyon sonucunda 0. ve 10 dakika sonra ölçülmüştür. Köpük kapasitesi, 0. dakikada oluşan köpük genişmesini ifade ederken, köpük stabilitesi 10. dakikada oluşan köpük genişmesini ifade etmiştir. Köpük genişmesi aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır (Zamorano-Apodaca ve ark., 2020).

$$\text{Köpük genişmesi (\%)} = [(A - B) / B] \times 100 \quad (3.4)$$

A: Farklı zamanlardaki hacim (mL)

B: Homojenizasyondan önceki hacim (mL)

3.2.6. Yağ bağlama kapasitesi

Balık hidrolizatlarının yağ bağlama kapasitesi, Kraoud ve ark. (2019) tarafından belirtilen yöntemde değişiklik yapılarak belirlenmiştir. Darası alınan santrifüj tüplerine 50 mg numune koyulmuş ve tartılmıştır. Üzerine 1.5 ml ayçiçek yağı eklenmiş ve oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. Karışımlar, vorteksle (Velp ZX3 Vortex Mixer, İtalya) her 15 dakika da bir 5 sn karıştırılmıştır. Sonrasında 5000 g' de 15 dk santrifüj (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Almanya) edilmiş ve yağ fazı uzaklaştırılmıştır. Kontrol grubu için boş bir santrifüj tüpüne örnek koymadan sadece yağ eklenmiştir. Yağ bağlama kapasitesi, mL yağ/g protein olarak ifade edilmiştir.

3.2.7. Zetapotansiyel

Zeta Potansiyel: Gümüş balığı hidrolizatlarının %10' luk çözeltisi saf su ile hazırlanmıştır. Tam olarak çözünme için numuneler, 45°C' de 30 dakika su banyosunda (Mettler WNB45, Schwabach, Almanya) bekletilmiştir. 25 µL numune, 2 mL PBS (0.01 M ve pH 7.4) ile karıştırılarak Zetasizer Nano ZSP (Malvern, İngiltere) cihazı ile

ölçüm yapılmıştır. Zeta potansiyal değerleri, en az her birinden 3 ölçüm içeren pH 3, 5, 7 ve 9' daki değerler ortalama olarak elde edilmiştir (Tkaczewska ve ark., 2020).

3.2.8. Aktif-SH içeriği belirleme

Aktif sülfhidril (SH) içeriği, Gong ve ark. (2016) tarafından açıklanan yöntemeye göre DTNB (5,5'-Ditiobis- (2-nitrobenzoik asit)) kullanılarak belirlenmiştir. Başlangıçta, 8 M üre içeren 30 mL Tris-glisin tamponuna (0.086 M Tris, 0.09 M glisin, 4 mM EDTA, pH 8.0) 180 mg protein ila ve edilmiş ve oda sıcaklığında 30 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra çözelti, 10 dakika boyunca 10.000 g' de santrifüjlenmiştir (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Almanya). Süpernatant toplanıp, aktif sülfhidril gruplarının içeriğini ölçmek için 160 µL DTNB'ye (aynı tamponda 4 mg/mL) 4 mL seyreltilmiş süpernatant ila ve edilmiş ve 15 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Karışımın absorbansı, spektrofotometre kullanılarak 412 nm'de okunmuştur. Reaktif (tampon + DTNB), kontrol olarak kullanılarak aktif sülfhidril gruplarının içeriği aşağıdaki içeriğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{Aktif SH grupları } (\mu\text{mol/g}) = (73.53 \cdot 412 \text{ nm'deki absorbans}) / \text{Örnek konsantrasyonu (mg/mL)} \quad (3.5)$$

3.2.9. Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisi ile analiz

Balık protein hidrolizatlarının amid I, II, III, A ve B gibi yapısal özellikleri ve fonksiyonel grupları, Cebi ve ark. (2016) tarafından tarif edilen metot izlenerek Fourier Transform Infrared (FTIR) spektroskopisi kullanılarak belirlenmiştir. Gümüş balığı hidrolizatlarının %10'luk çözeltisi saf su ile hazırlanmıştır. Homojenizasyonun tam olarak gerçekleşmesi için çözeltiler, 45°C'de 30 dakika su banyosunda (Memmert WNB45, Schwabach, Germany) bekletilmiştir. Çözeltilerin ATR-FTIR sepektrumları, 4 cm⁻¹ çözünürlük düzeyinde ve her spektrumda 16 tarama olacak şekilde okuma yapılmıştır (Bruker Tensor 27 FTIR spektrometre, Ettlingen, Almanya). Spektrumların kaydı 4000-600 cm⁻¹ orta kızılötesi bölgede gerçekleştirilmiştir. Her numune için aynı koşullarda ölçümü yapılan üç spektrumun ortalaması alınmıştır. Her ölçüm öncesi, kristal yüzeyi saf su ve %100 saf etil alkol ile temizlenmiştir.

3.2.10. Renk özelliklerinin belirlenmesi

Hidrolizatların rengi, Chroma meter CR-400 (Konica Minolta) cihazı kullanılarak Filik ve ark. (2019) metoduna göre belirlenmiştir. L*-parlaklık, a* (kırmızı-yeşil) ve b* (sarı-mavi) parametreleri tespit edilmiştir (Filik ve ark., 2018).

3.2.11. Antioksidan kapasitesi belirleme

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) yöntemi: saf su ile hazırlanan (0.75, 1.5 ve 7.5 mg/mL) hidrolizat solüsyonlardan 1.5 mL alınarak üzerine etanolde hazırlanan 0.2 mM DPPH çözeltisinden 1.5 mL eklenmiştir. Karışım vorteksle (velp ZX3 Vortex Mixer, Usmate (MB), Italy) yüksek hızda iyice karıştırılmıştır. Solüsyon, oda sıcaklığında 20 dakika süreyle karanlıkta bekletilmiştir. Kontrol numunelerinde solüsyon yerine saf su kullanılmıştır. Absorbans, spektrofotometreyle (Shimadzu UV-1800, Tokyo, Japan) 517 nm dalga boyunda okunmuştur. Düşük absorbans değeri, yüksek radikal süpürme aktivitesi gösterdiğini işaret etmektedir. DPPH radikal süpürme aktivitesi aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır (Dara ve ark., 2020).

$$\text{DPPH aktivitesi (\%)} = [1 - \text{Absörnek} / \text{Abskontrol}] \times 100 \quad (3.7)$$

3.2.12. Antimikrobiyal özelliklerin belirlenmesi

Gümüş balığı liyofilize hidrolizatları, 1:1, 1:2 ve 1:4 oranında [mg/µL] steril saf su ile çözüldürülmüştür. Daha sonra bir gece boyunca *Bacillus cereus* BC 6830, *Salmonella typhimurium* RSSK 95091, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATC 25923 patojen mikroorganizmaları, dökme sıcaklığına getirilen Nutrient agar ortamına %1 oranında inoküle edilmiş ve agar kuyucuk metodu uygulanarak agarlarda üçer adet kuyucuk açılmıştır. Açılan kuyucuklara farklı hidrolizat çözeltilerinden 60 µL ilave edilmiş ve kontrol grubu olarak steril saf su kullanılmıştır. 18 saatlik inkübasyondan sonra oluşan zonlar ölçülmüş ve sonuçlar cm cinsinden ifade edilmiştir (Vidal ve ark., 2019).

3.2.13 İstatistiksel analiz

Sonuçlar, her analiz için ortalama veya ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilecektir. Varyans analizi, ortalamaların karşılaştırılmasında Duncan çoklu karşılaştırma ve frekans verileri için ki kare analizi kullanılarak gerçekleştirildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Hidroliz verimi

Çalışmamızda Hirfanlı ve Yamula Baraj Gölü Gümüş balığından alkalaz, bromelain ve flavourzyme enzimi kullanılarak elde edilen hidrolizatların verimi Tablo 4.1’de verilmiştir. Hidroliz veriminde enzim türü ve lokasyon açısından istatistiksel önemli farklılık gözlenmemiştir ($P > 0.05$). *Catla catla* üzerine yapılan bir çalışmada da benzer şekilde alkalaz enzimi hidrolizat veriminin (%6.60) flavourzyme enzimine (%5.44) göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Elavarasan ve ark., 2014).

Tablo 4.1. Gümüş balığı hidrolizatlarının hidroliz verimi

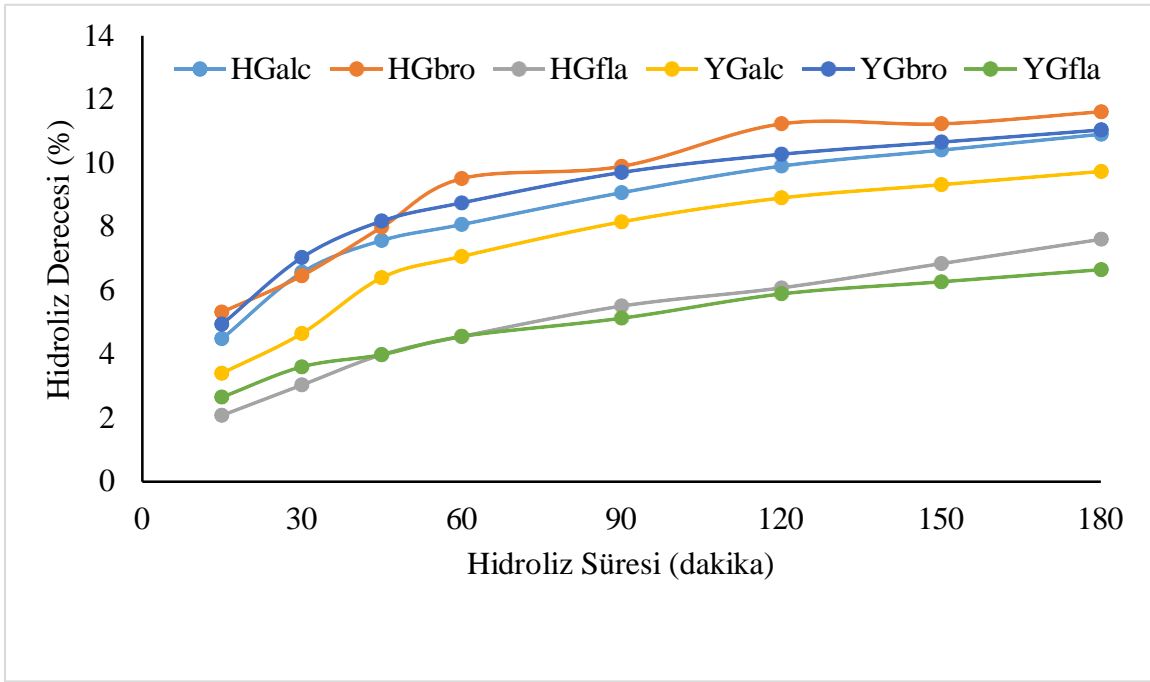
Hidroliz verimi (%)			
Enzim Çeşidi	HG Gümüş balığı hidrolizatı	YG Gümüş balığı hidrolizatı	P
Alkalaz	9.90	11.23	0.827
Bromelain	9.59	10.11	0.998
Flavourzyme	6.84	7.52	0.796
P	0.717	0.786	

HG: Hirfanlı Baraj Gölü YG: Yamula Baraj Gölü P: Önem Düzeyi

4.2. Hidroliz Derecesi

Hidroliz derecesi (HD), proteolizi izlemek ve enzimatik hidroliz sonucunda elde edilen peptid bağlarının oranını belirlemek için kullanılan bir parametredir (Rutherford, 2010). Sıcaklık, pH değeri, zaman, uygun enzim ve bu enzimin konsantrasyonu gibi parametreler hidroliz derecesini önemli derecede etkilemektedir (Hajfathalian ve ark., 2018). Gümüş balığından elde edilen protein hidrolizatlarının hidroliz dereceleri Şekil 4.1’de verilmiştir. Alkalaz, bromelain ve flavourzyme enzimleri kullanılarak 180 dakikalık hidroliz işlemi sonucunda sırasıyla HGalc, HGbro, HGfla, YGalc, YGbro ve YGfla numunelerinin hidroliz dereceleri %10.90, %11.60, %7.61, %9.74, %11.04 ve %6.66 olarak tespit edilmiştir. Hidroliz derecesi hidroliz süresi arttıkça artmakta olup, bu süreçte ilk 60 dakikada hidroliz artışı hızlı olduğu sonrasında ise bu hızın azaldığı gözlemlenmiştir. Zamanla hidroliz hızındaki bu azalma, enzimin etki mekanizması olan substrat miktarının azalması, hidroliz ürünlerinin zamanla birikmesi ve belirli reaksiyon süresinden sonra dengenin oluşması ile ilgilidir (Şimşek, 2022). Benzer şekilde Pasifik Berlamı (*Merluccius productus*) üzerine yapılan bir çalışmada da alkalaz ile gerçekleştirilen hidroliz derecesindeki artışın ilk 60 dakikada daha hızlı bir şekilde

arttığı gözlenmiştir (Benjakul ve Morrissey, 1997). Üretilen peptidlerin hidroliz derecesi kullanılan enzimin çeşidine göre değişmektedir (Tekle, 2022). Alkalaz *Bacillus licheniformis* bakterisinden üretilen serin endopeptidaz özellikle, bromelain ise *Ananas comosus* bitkisinden üretilen sistein proteaz özellikte olan enzim olup, bu iki enzimde protein zincirinde birçok farklı peptid bağıni kestiği yani geniş substrat seçiciliğine sahip oldukları için proteinlerin yüksek oranda hidrolizini sağlamaktadır (Masniar ve ark., 2016; Nadzri ve ark., 2021). Flavourzyme *Aspergillus oryzae* mantarından elde edilen yüksek oranda ekzopeptidaz olup endopeptidaz özellikte gösteren bir enzim olup protein zincirlerini uç noktalardan yavaş kestiği için düşük oranda hidroliz gerçekleştirmektedir (Nilsang ve ark., 2005). Çalışmamızda hidroliz derecesi bromelain ve alkalaz enziminde yüksek, flavourzyme de ise daha düşük gözlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Gümüş balığı hidrolizatlarının hidroliz derecesi

4.3. Ham Protein Miktarı Analizi

Hirfanlı ve Yamula Baraj Gölü Gümüş balığında bulunan ham protein miktarı Tablo 4.2’de verilmiştir. Genel olarak en yüksek protein miktarı Yamula Baraj Gölü’nden bromelain kullanılarak üretilen hidrolizatta, en düşük ise Yamula Baraj Gölü’nden alkalaz kullanılarak elde edilen hidrolizatta olup, değerler %68.11 ile %83.57 aralığında tespit edilmiştir. Protein miktarı enzim türü ve lokasyon açısından istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermemiştir ($P > 0.05$). Atlantik somonundan alkalaz kullanılarak üretilen hidrolizatın ham protein miktarı %82.30 (Gbogouri ve ark.,

2004), Tilapia (*Oreochromis sp.*) balığından bromelain enzimi kullanılarak elde edilen hidrolizatın ham protein miktarı %55.55 (Sholahuddin ve ark., 2024) ve büyük kafalı sazan balığından flavourzyme kullanılarak üretilen hidrolizatın protein miktarı farklı hidroliz derecelerinde %83.62 ile %88.19 aralığında olup (Alahmad ve ark., 2023), çalışmamızdaki bulgular ile farklılık göstermiştir. Verilere göre balıklardan elde edilen hidrolizatın ham protein miktarı balığın cinsine, bulunduğu bölgeye, hidroliz derecesine ve kullanılan enzime bağlıdır (Pires ve ark., 2024).

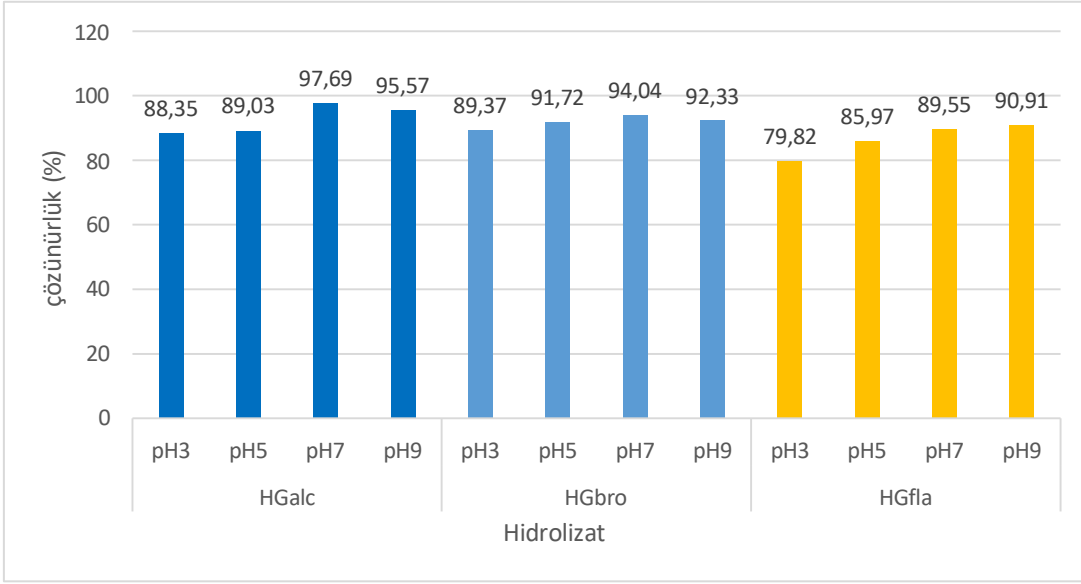
Tablo 4.2. Gümüş balığı hidrolizatlarının protein miktarı

Protein Miktarı (%)			
Enzim Çeşidi	HG Gümüş balığı hidrolizatı	YG Gümüş balığı hidrolizatı	P
Alkalaz	73.21	68.11	0.674
Bromelain	80.02	83.57	0.755
Flavourzyme	77.30	74.70	0.871
P	0.851	0.427	

HG: Hirfanlı Baraj Gölü, YG: Yamula Baraj Gölü P: Önem Düzeyi

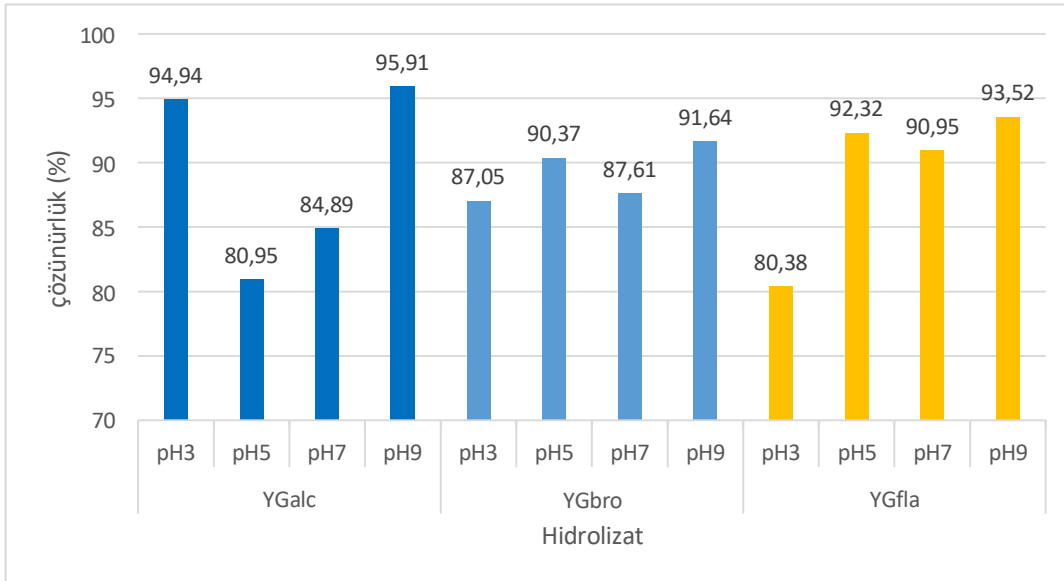
4.4. Çözünürlük

Balık hidrolizatlarındaki en önemli değişimlerden biri suda çözünebilir protein miktarındaki artıştır (Panyam ve Kilara, 1996). Peptid fraksiyonlarının emülsiyon, köpük ve yağ bağlama gibi diğer fonksiyonel özellikleri çözünürlükten etkilenmektedir. Güçlü iyonik ortam ve uygun pH aralığında birikme olmaksızın artan çözünürlük, derecesi arttıkça artış göstermektedir. Ayrıca düşük molekül ağırlığa sahip peptidlerin çözünürlüğü daha fazladır (Kristinsson ve Rasco, 2000b; Slizyte ve ark., 2009). Protein hidrolizatın temel bir fonksiyonel özelliği olan çözünürlük değerleri; pH 3, 5, 7 ve 9'da Şekil 4.2 ve 4.3'te gösterilmiştir. Hidrolizatlar genel olarak en düşük HGfla (%79.82) ve en yüksek HGalc (%97.69) arasında, çeşitli pH değerlerinde sürekli olarak yüksek çözünürlüğe sahip çıkmıştır. Numunelerde çözünürlükler asidik pH'da daha düşük, pH artırıldığında ise daha yüksek değerler göstermiştir. Geniş bir pH aralığında HG ve YG numunelerinin hepsinde önemli istatistiksel farklılıklar gözlenmemiş olup (P:0.994, P:0.985) ve genel olarak çözünürlükler artmıştır. Yakın sonuçlar sarı şeritli uskumru hidrolizatında elde edilmiş olup %85'in üzerinde çözünürlük tespit edilmiştir (Klompong, 2007).



Şekil 4.2. Hirfanlı Baraj Gölü gümüş balığı hidrolizatlarının çözünürlüğü

Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı hidrolizatlarının çözünürlüğü P: 0.994 olarak elde edilmiştir. HGalc: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGbro: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGfla: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme enzimi ile elde edilen hidrolizat. P: Önem Düzeyi



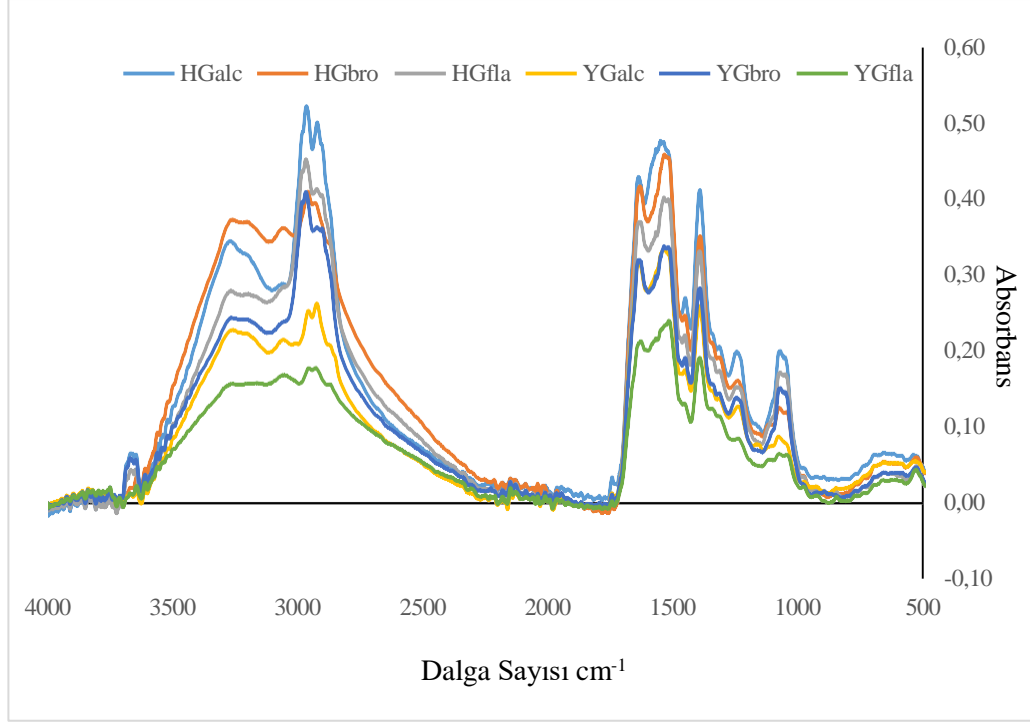
Şekil 4.3. Yamula Baraj Gölü gümüş balığı hidrolizatlarının çözünürlüğü

Yamula Baraj Gölü gümüş balığı hidrolizatlarının çözünürlüğü P: 0.985 olarak elde edilmiştir. YGalc: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGbro: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGfla: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme ile elde edilen hidrolizat. P: Önem düzeyi

4.5. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektroskopi Analizi

FTIR spektroskopisi, proteinlerin sekonder yapısını belirlemek için bilinmesi gereken moleküler yapı hakkında bilgi sağlar (Petibois ve Deleris, 2006). Fonksiyonel grupların gözlemlenmesi ve mikro yapılarını tespit etmek amacıyla FTIR analizleri yapılmaktadır. Hidrolizat için absorpsiyon pikleri Amid I, II, III, A ve B bantlarıdır

(Doyle ve ark., 1975). Hirfanlı Baraj Gölü ve Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı hidrolizatlarının FTIR spektrumları ve Amide I, II, III, A ve B bölgeleri Şekil 4.4 ve Tablo 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.4. Gümüş balığı hidrolizatlarının FTIR spektrumları

HGalc: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGbro: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGfla: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGalc: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGbro: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGfla: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme ile elde edilen hidrolizat.

Amide I bandı genellikle C=O (karbonil) ve C-N (karbon-azot) gerilme titreşimlerinden kaynaklanmakta olup, bu bölgedeki absorpsiyon, proteinlerin ikincil yapısını infrared spektroskopisiyle belirlemede ve protein konformasyonundaki küçük değişikliklere karşı çok hassas olduğu için oldukça önemlidir (Bandekar, 1992; Cebi ve ark., 2016). Çalışmamızda Amide I bandı altı farklı numune için 1628–1638 cm^{-1} aralığında gözlenmiştir. Benzer sonuç Gümüş sazanı (*Hypophthalmichthys molitrix*) hidrolizatında elde edilmiş ve 1629 cm^{-1} dalga sayısı bulunmuştur (Safandowska ve Pietrucha, 2013).

Amide II bandı 1550-1600 cm^{-1} aralığında normal bir absorpsiyon değerine sahip olan, esas olarak C-N gerilme titreşimleriyle birleştirilmiş N-H bağı ile ilişkilidir ve daha düşük dalga boylarına kayma, hidrojen bağı oluşumunu göstermektedir (Woo ve ark., 2008). Çalışmamızda Amide II bandı altı farklı numune için 1516-1550 cm^{-1}

aralığında gözlenmiştir. Yakın sonuçlar Atlantik somonu, Afrika yayın balığı ve Baltık Morina balığı hidrolizatlarında elde edilmiş ve 1539-1543 cm^{-1} aralığında bulunmuştur (Tylingo ve ark., 2016).

Amide III bandı, glisin omurgası, C-N gerilme titreşimi ile N-H deformasyonu arasındaki bağ ile ilgilidir (Woo ve ark., 2008). Çalışmamızda Amide III bandı altı farklı numune için 1240-1393 cm^{-1} aralığında gözlenmiştir. Bu aralıkta yer alan benzer bir sonuç yıldızlı balon balığı (*Arothron stellatus*) hidrolizatında elde edilmiş ve 1243 cm^{-1} değerinde tespit edilmiştir (Ramanathan ve ark., 2014).

Amide A bandı, N-H gerilme titreşimi ile doğrudan bağlantılıdır. Peptidlerdeki değişiklikler Amide A bandında kayma meydana gelir ve bu band kayması hidrolizin varlığını ve şiddetini ifade eder (Ji ve ark., 2020). Çalışmamızda Amide A bandı altı farklı numune için 3060-3271 cm^{-1} aralığında gözlenmiştir. Benzer sonuçlar ton balığı üzerine yapılan çalışmada Amide A bandı 3226 cm^{-1} değerinde bulunmuştur (Grasso ve ark., 2024).

Amide B bandı ikincil amin grupları yanı sıra C-H' nin asimetric gerilme titreşimine bağlı olarak çalışmamızda Amide B bandı altı farklı numune için 2925-2969 cm^{-1} aralığında gözlenmiştir. Yakın sonuç Yelkenli balığı üzerine yapılan çalışmada da gözlenmiş ve Amide B bandı 2928 cm^{-1} olarak tespit edilmiştir (Tamilmozhi ve ark., 2013).

Tablo 4.3. Gümüş balığı hidrolizatlarının FTIR spektrumları (cm^{-1})

Peptid Fraksiyonu	Amide I	Amide II	Amide III	Amide A	Amide B	Fingerprint
HGalc	1638	1550	1245	3271	2967	1071
HGbro	1633	1535	1392	3267	2961	1075
HGfla	1633	1536	1245	3253	2969	1071
YGalc	1638	1537	1240	3265	2925	1079
YGbro	1634	1536	1246	3268	2969	1071
YGfla	1628	1516	1393	3060	2930	1076

HGalc: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGbro: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGfla: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGalc: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGbro: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGfla: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme ile elde edilen hidrolizat.

4.6. Köpük Kapasitesi ve Stabilitesi

Hidrolizatların köpük kapasitesi değerleri ve oluşan köpüğün 10 dakika sonraki hacmi ölçülerek elde edilen köpük stabilitesi değerleri Tablo 4.4 ve Tablo 4.5'te verilmiştir. Çalışmamızda genel olarak en yüksek köpük kapasitesi Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığından alkalaz enzimi kullanılarak üretilen hidrolizat numunesinde gözlenmiş olup, alkalaz ve bromelain kullanılarak elde edilen hidrolizatlar Yamula Baraj Gölü'nde, flavourzyme kullanılarak elde edilen hidrolizatlar ise Hirfanlı Baraj Gölü'nde daha düşük tespit edilmiştir (Tablo 4.4). Her iki baraj gölündede enzim çeşidi olarak istatistiksel olarak önemli fark gözlenmiştir ($p < 0.05$). Çalışmamızda da gözlendiği üzere; hava-su ara yüzündeki hidrofobik bölgelerin yoğunluğuna bağlı olarak ortamda bulunan iyonik güçlerden kaynaklı köpük kapasitesi, farklı bölgelerde değişken sonuçlar vermektedir (Hailing ve Walstra, 1981). Elde edilen sonuçlar, Sarı çizgili uskumru (*Selaroides leptolepis*) balığı'ndan üretilen hidrolizatın %15'lik hidroliz derecesindeki köpük kapasitesi değerleri ile benzer çıkmıştır (Klompong ve ark., 2007).

Tablo 4.4. Gümüş balığı hidrolizatlarının köpük kapasitesi

Köpük Kapasitesi (%)			
Enzim Çeşidi	HG Gümüş balığı hidrolizatı	YG Gümüş balığı hidrolizatı	P
Alkalaz	114.84 a-A	85.24 b-A	0.034
Bromelain	94.44 a-AB	49.08 b-B	< 0.001
Flavourzyme	70.19 B	82.08 A	0.330
P	0.004	0.004	

a, b: aynı satırda bulunan farklı harfler istatistiksel farklılığı ($p < 0.05$) göstermektedir. A, B: aynı sütunda bulunan farklı istatistiksel farklılığı ($p < 0.05$) göstermektedir. HG: Hirfanlı Baraj Gölü YG: Yamula Baraj Gölü, P: Önem düzeyi

Köpük stabilitesi yine en yüksek Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı'ndan alkalaz enzimi kullanılarak üretilen hidrolizat numunesinde, en düşük iki değer ise her iki bölgede de bromelain enzimi kullanılarak üretilen hidrolizatta tespit edilmiştir (Tablo 4.5). Her iki baraj gölündede enzim çeşidi olarak istatistiksel olarak önemli fark gözlenmiş ($p < 0.05$), baraj gölleri arasında ise istatistiksel önemli farklılık gözlenmemiştir ($p > 0.05$). Mevcut araştırmamızda gözlendiği üzere, hidroliz derecesi arayüzeydeki film oluşumunu etkilediği için kullanılan enzim türü köpük stabilitesini değiştirmektedir (Mutilangi ve ark., 1996; Wangkheirakpam ve ark., 2019).

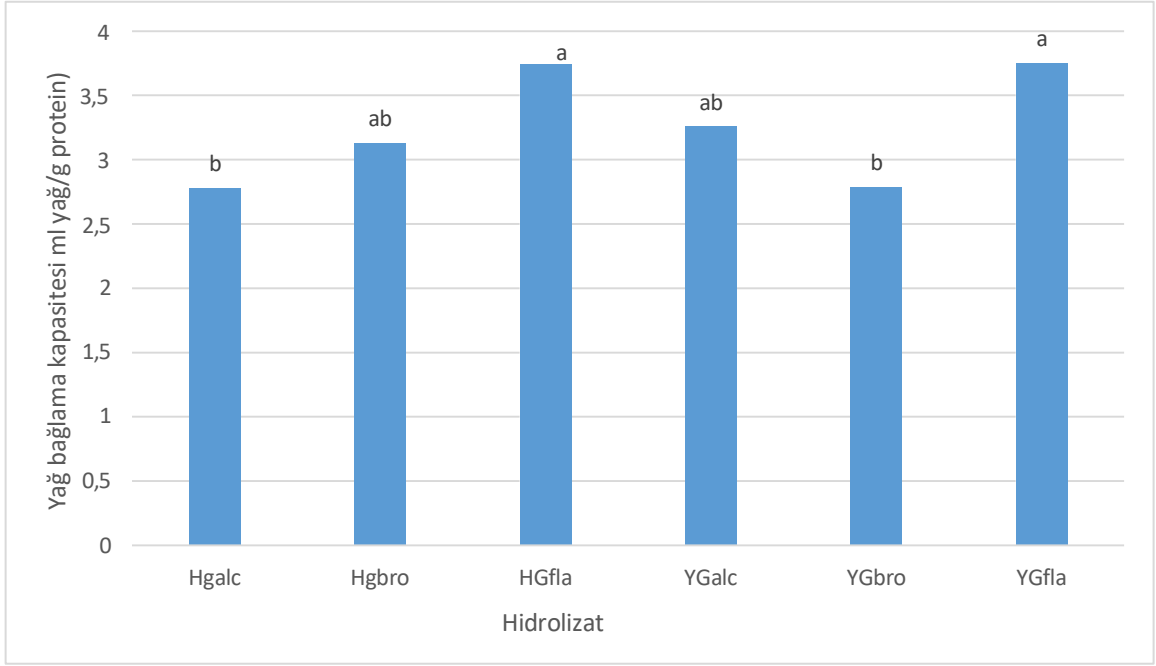
Tablo 4.5. Gümüş balığı hidrolizatlarının köpük stabilitesi

Köpük stabilitesi (%)			
Enzim Çeşidi	HG Gümüş balığı hidrolizati	YG Gümüş balığı hidrolizati	P
Alkalaz	76.65 A	74.34 A	0.807
Bromelain	13.49 C	14.60 C	0.705
Flavourzyme	29.14 b-B	48.97 a-B	0.024
P	< 0.001	< 0.001	

a, b: aynı satırda bulunan farklı harfler istatistiksel farklılığı ($p < 0.05$) göstermektedir. A, B: aynı sütunda bulunan farklı istatistiksel farklılığı ($p < 0.05$) göstermektedir. HG: Hirfanlı Baraj Gölü YG: Yamula Baraj Gölü, P: Önem düzeyi

4.7. Yağ Bağlama Kapasitesi

Hidrolizatların yağ bağlama kapasitesi et ve şekerleme gibi gıda endüstrisi alanlarında önemli bir fonksiyonel özelliktir (Souissi ve ark., 2007). Hidrolizatların yağ bağlama kapasitesi değerleri Şekil 4.5’de verilmiştir. 2.78 ± 0.12 ile 3.75 ± 0.12 mL/g aralığında değişmektedir. Çalışmamızda gözlemlendiği üzere, üç farklı enzimle üretilen hidrolizatlar arasında, en düşük hidroliz derecesine sahip hidrolizat numunesinde yağ bağlama kapasitesi en yüksek değerde ölçülmüştür. Bu durum, kullanılan enzimin yağ bağlama kapasitesi üzerinde belirleyici bir rol oynadığını göstermektedir (Kristinsson ve Rasco, 2000a). HGbro ve YGalc, HGalc ve YGbro ile HGfla ve YGfla numune çiftleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($P > 0.05$). Ancak, bu üç gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmıştır ($P < 0.05$). Ringa balığından üretilen hidrolizatın 3.7 ile 7.3 mL/g arasında (Sathivel ve ark., 2003), Atlantik somonundan üretilen hidrolizatın 2.86 ile 7.07 mL/g arasında (Kristinsson ve Rasco, 2000a) ve hamsiden üretilen hidrolizatın 3.00 ile 3.04 mL/g arasında (Koç, 2016) yağ bağlama kapasiteleri tespit edilmiş olup, sonuçlar çalışmamızdaki bulgular ile benzerlik göstermiştir. Yapılan birçok çalışmadan elde edilen verilere göre balık hidrolizatlarının yağ bağlama kapasitesinin, 1.0 ile 10.8 mL/g aralığında gözlemlendiği bildirilmiştir (Halim ve ark., 2016).



Şekil 4.5. Gümüş balığı hidrolizatlarının yağ bağlama kapasitesi

Farklı harfler numuneler arasındaki önemli istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). HGalc: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, Hgbro: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGfla: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGalc: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGbro: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGfla: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme ile elde edilen hidrolizat.

4.8. Emülsiyon Aktivitesi ve Stabilitesi

Hidrolizatların emülsiyon mekanizması, homojenizasyon sırasında oluşan yağ damlacıklarının yüzeyde emilimi ile ilişkilendirilir ve bu damlacıkların ara yüzeyde birleşmesini engelleyen koruyucu zar oluşturur. Hidrolizatların yüzeyi aktif ürünlerdir ve hidrofilik (suyu seven), hidrofobik (suyu sevmeyen) gruplarından dolayı su içinde yağın stabilitesini destekler (Wasswa ve ark., 2007). Elde edilen numunelerin emülsiyon aktivitesi (EAI) değerleri Tablo 4.6'da verilmiştir. EAI'de en yüksek değer, hidroliz derecesi düşük olan Hirfanlı Baraj Gölü'nden flavourzyme enzimi kullanılarak üretilen numunede, en düşük değer ise Hirfanlı Baraj Gölü'nden alkalaz enzimi kullanılarak üretilen numunede gözlenmiştir. Emülsiyon aktivite indeksinde değerlerinde barajlar arasında istatistiksel önemli farklılıklar saptanmıştır ($p < 0.001$). Hirfanlı barajı için ortalama ve standart hata değerleri 81.88 ± 6.00 ve Yamula barajı için 80.02 ± 1.78 olarak belirlenmiştir. HGalc numunesinin EAI değerinin düşük çıkması, oluşan peptitlerin yüzeyde düzgün şekilde dağılmamasından kaynaklı olabilir (Opazo-Navarrete ve ark., 2022). Somondan elde edilen hidrolizatın düşük hidroliz derecesinde daha yüksek emülsiyon özellik göstermesi çalışmamızdaki sonuçlar ile benzerlik göstermiştir (Gbogouri ve ark., 2004).

Tablo 4.6. Gümüş balığı hidrolizatlarının emülsiyon aktivite indeksi

Emülsiyon Aktivite İndeksi m ² /g			
Enzim Çeşidi	HG Gümüş balığı hidrolizati	YG Gümüş balığı hidrolizati	P
Alkalaz	58.96 ± 0.59 b-C	86.78 ± a-A	< 0.001
Bromelain	87.21 ± 0.22 a-B	74.68 ± 0.06 b-C	< 0.001
Flavourzyme	99.49 ± 0.28 a-A	78.61 ± 0.25 b-B	< 0.001
P	< 0.001	< 0.001	

a, b: aynı satırda bulunan farklı harfler istatistiksel farklılığı (p <0.05) göstermektedir. A, B: aynı sütunda bulunan farklı istatistiksel farklılığı (p <0.05) göstermektedir. HG: Hirfanlı Baraj Gölü YG: Yamula Baraj Gölü, P: Önem düzeyi

Elde edilen numunelerin emülsiyon stabilite indeksi (ESI) değerleri Tablo 4.7’de verilmiştir. ESI’de en yüksek iki değer Hirfanlı ve Yamula Baraj Gölü’nden bromelain kullanılarak üretilen numunelerde, en düşük değer ise Yamula Baraj Gölü’nden flavourzyme kullanılarak üretilen numunede gözlenmiştir. Emülsiyon stabilite indeksi değerlerinde barajlar arasında anlamlı fark tespit edilmiş olup (p <0.001) Hirfanlı barajı için ortalama ve standart hata değerleri 35.46±3.44 ve Yamula barajı için 25.11±2.27 olarak belirlenmiştir. Su sazanı (*Catla catla*) üzerine yapılan bir çalışmada hidrolizatlar alkalaz, flavourzyme ve bromelain kullanılarak hazırlanmış ve ESI sırasıyla 35.84, 14.32 ve 85.46 değerinde gözlenmiştir (Elavarasan ve ark., 2014). Çalışmamızla benzer sonuç olarak en yüksek ESI değeri bromelain ile üretilen hidrolizatta gözlenmiştir. Bromelain hidrolizati suyu seven ve suyu sevmeyen iki farklı bölgeyi içerir. Bundan kaynaklı yağ-su ara yüzeyine kuvvetli şekilde adsorbe olarak yağ damlacıklarının koalesansını ve agregasyonunu engeller ve ESI değerini artırır (Zheng ve ark., 2020).

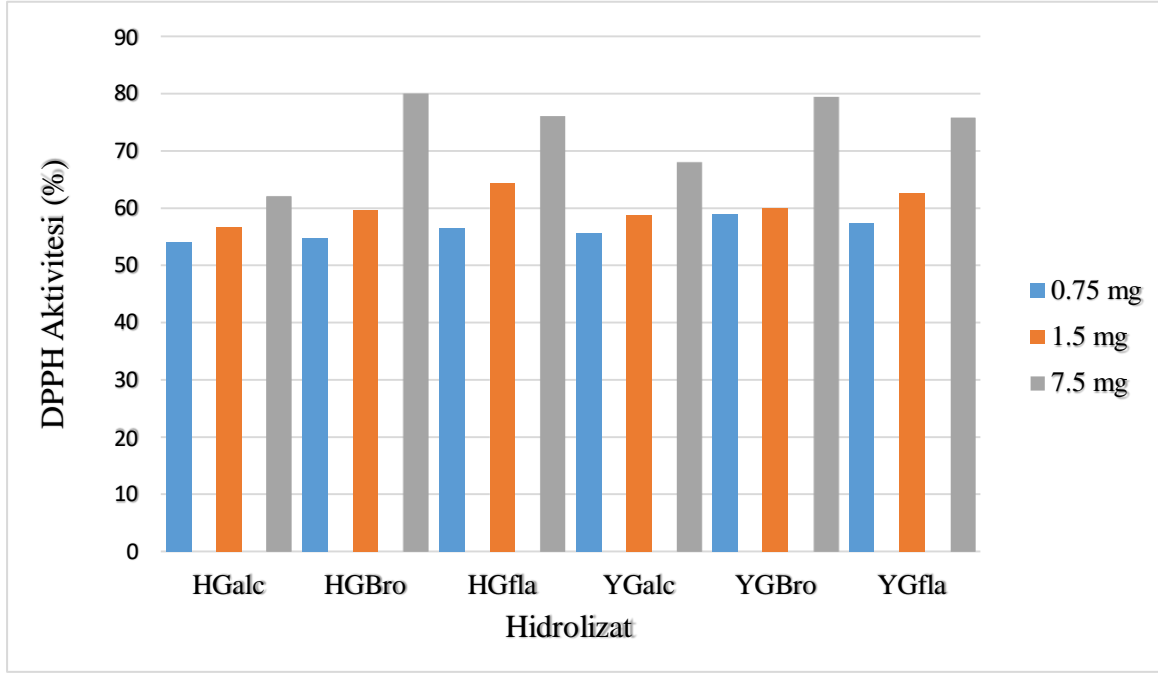
Tablo 4.7. Gümüş balığı hidrolizatlarının emülsiyon stabilite indeksi

Emülsiyon Stabilite İndeksi m ² /g			
Enzim Çeşidi	HG Gümüş balığı hidrolizati	YG Gümüş balığı hidrolizati	P
Alkalaz	30.25 ± 0.94 a-B	17.04 ± 0.03 b-C	< 0.001
Bromelain	49.03 ± 0.46 a-A	32.73 ± 0.21 b-A	< 0.001
Flavourzyme	27.11 ± 0.21 a-C	25.57 ± 0.11 b-B	0.003
P	< 0.001	< 0.001	

a, b: aynı satırda bulunan farklı harfler istatistiksel farklılığı (p <0.05) göstermektedir. A, B: aynı sütunda bulunan farklı istatistiksel farklılığı (p <0.05) göstermektedir. HG: Hirfanlı Baraj Gölü YG: Yamula Baraj Gölü, P: Önem düzeyi

4.9. 2,2-Diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) Aktivitesi

Antioksidanlar, oksidasyon tepkimelerini önemli derecede engelleyen maddelerdir. Oksidasyon sonucu açığa çıkan serbest radikaller; kalp rahatsızlıkları, kanser gibi birçok sağlık sorununa yol açtığından oksidasyon tepkimesinin engellenmesi insan sağlığı için önemli bir rol oynamaktadır (Chalamaiah ve ark., 2012). Protein hidrolizatlarının radikal temizleyici özellik göstererek doğal antioksidan etkisi yarattığı ortaya konmuştur (Harnedy ve FitzGerald, 2012). Elde edilen hidrolizatların DPPH radikal süpürme aktivitesi Şekil 4.6'da verilmiştir. DPPH, üç farklı konsantrasyonda da (0.75, 1.5 ve 7.5 mg) en düşük alkalaz kullanılarak üretilen numunelerde gözlenmiş olup, sırasıyla %54.15, %56.69 ve %62.04 değerinde, en yüksek ise bromelain kullanılarak üretilen numunede %79.99 değerinde gözlenmiştir. 1.5 mg konsantrasyonda farklı bir çalışmada; 6 çeşit enzimle orkinos omurgasından elde ettikleri hidrolizatların antioksidan aktivitesini araştırmışlardır. Bu kapsamda alkalaz hidrolizatlarının %4.82 ile düşük seviyede DPPH radikali temizleme aktivitesi sergiledikleri rapor edilmiştir (Je ve ark., 2007). Çalışmamızda ise gümüş balığı alkalaz hidrolizatlarında ortalama %57 tespit edilmiş olup, yaklaşık 11 kat daha yüksek DPPH temizleme aktivitesi bulunmuştur. Balık cinsinin aynı olmamasından ve hidroliz süresinin fazla olmasından DPPH değerinin doğrudan etkilendiği düşünülmektedir. Uzun süreli hidroliz parçalanmanın ileri düzeyde gerçekleşmesine neden olarak, boyut olarak küçülen ve serbest aminoasit yapısına giren protein moleküllerinin daha düşük DPPH temizleme aktivitesi ortaya koyduğunu göstermektedir (Klompong ve ark., 2007).



Şekil 4.6. Gümüş balığı hidrolizatlarının DPPH aktivitesi

Gümüş balığı hidrolizatlarının DPPH aktivitesi için P:0.283 olarak elde edilmiştir. HGalc: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGBro: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGfla: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGalc: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGBro: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGfla: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme ile elde edilen hidrolizat.

4.10. Renk Analizi

Hidrolyz işleminin hidrolizatların rengini nasıl etkilediğini belirlemek için açıklık (L^*), kırmızı-yeşil eksen (a^*) ve sarı-mavi eksen (b^*) parametreleri tespit edilmiştir. (Taheri ve ark., 2013). Elde edilen veriler Tablo 4.8'de verilmiştir. Açıklık en fazla Yamula Baraj Gölü'nden bromelain kullanılarak elde edilen hidrolizatta, kırmızı-yeşil ekseninde yeşile eğilim en fazla Yamula Baraj Gölü'nden alkalaz kullanılarak elde edilen hidrolizatta ve sarı-mavi ekseninde sarıya eğilim en fazla Hirfanlı Baraj Gölü'nden alkalaz kullanılarak elde edilen hidrolizatta gözlenmiştir. Açıklık olarak HGalc, HGBro, YGalc ve YGfla örnekleri arasında, kırmızı-yeşil eksen eğilimi açısından HGalc, HGfla ve YGfla numuneleri arasında ayrıca sarı- mavi eksen meyillenmesi olarakta HGalc ve HGBro çifti ile YGalc ve YGfla çifti arasında önemli istatistiksel fark gözlenmemiştir ($P>0.05$). Tuna (*Euthynnus affinis*) balığından üretilen hidrolizat krem-sarımsı bir renkte tanımlanmış ve L^* , a^* , b^* değerleri sırasıyla 90.97, -0.83, 16.14 göstererek çalışmamızdaki bulgular ile yakın sonuçlar vermiştir (Parvathy ve ark., 2018). Çalışmadaki değerler göz önüne alındığında; enzim çeşidi, hidrolyz süresi, pH ve sıcaklık hidrolizatların renginin değişmesinde önemli bir rol oynar. Renk

değişimi, ürünün görünüş kalitesini etkilediğinden tüketici kabulündeki ilk bakılan etmendir (Honrado ve ark., 2024).

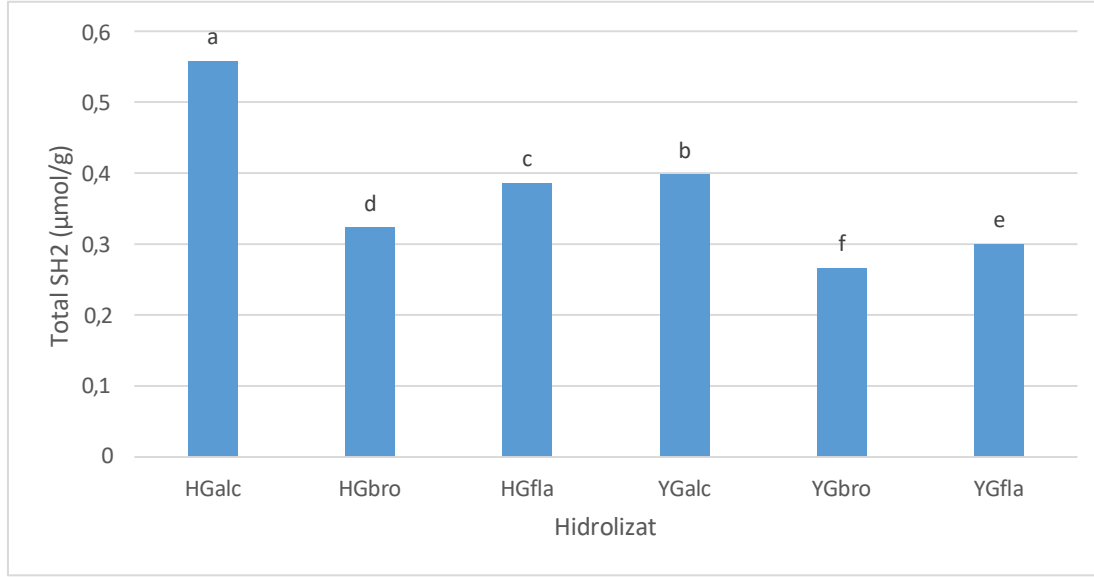
Tablo 4.8. Gümüş balığı hidrolizatlarının renk analizleri

Hidrolizat	HGalc	HGbro	HGfla	YGalc	YGbro	YGfla
L*(açıklık)	97.17±0.78 ^{AB}	97.02±1.32 ^{AB}	95.53±0.47 ^B	97.87±0.29 ^{AB}	98.90±0.82 ^A	97.81±1.53 ^{AB}
a*(kırmızı-yeşil)	-1.67±0.16 ^{AB}	-1.40±0.08 ^A	-1.50±0.12 ^{AB}	-2.03±0.04 ^C	-1.75±0.03 ^B	-1.42±0.06 ^{AB}
b*(sarı-mavi)	29.46±0.38 ^A	29.38±0.28 ^A	25.44±0.74 ^C	28.24±0.22 ^B	28.54±0.13 ^{AB}	27.57±0.56 ^B

A, B: aynı satırda bulunan farklı harfler istatistiksel farklılığı ($p < 0.05$) göstermektedir. HGalc: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGbro: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGfla: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGalc: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGbro: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGfla: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme ile elde edilen hidrolizat.

4.11. Aktif-SH içeriği

Serbest sülfhidril grupları ve disülfid bağları, proteinlerdeki belirleyici aktif grup olarak kabul edilir. Toplam sülfhidril, proteinin dış kısmında ve iç bölgesindeki açığa çıkan SH gruplarını kapsar. Biyolojik ve fonksiyonel aktiviteleri ifade etmek için serbest SH grubu yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır (Rahmanifarrah ve ark., 2014). Şekil 4.7’de görüldüğü gibi, en yüksek miktarda toplam sülfhidril grubu HGalc numunesinde ($0.55 \mu\text{mol/g}$), en düşük ise YGfla numunesinde ($0.29 \mu\text{mol/g}$) ölçülmüştür. Her numune arasında önemli istatistiksel farklılıklar gözlenmiştir ($p < 0.001$). Yapılan bir çalışmada ringa balığı hidrolizatının toplam sülfhidril grubu $32 \mu\text{mol/g}$ ölçülmüştür (Abdollahi ve Undeland, 2018). Hidrolizatın depolama süresinin artması proteinin yapısında değişikliğe neden olacağından molekülün yapısındaki gömülü sülfhidril grupları açığa çıkar ve oksitlenme meydana gelir. Böylelikle sülfhidril içeriğinde azalma görülür. Bu bağlamda, toplam SH gruplarının depolama süresinden etkilendiği, balık hidrolizatının depolama sırasında zamanla oksitlendiği ve besin kalitesini etkilediği görüldü (Guan ve ark., 2021).

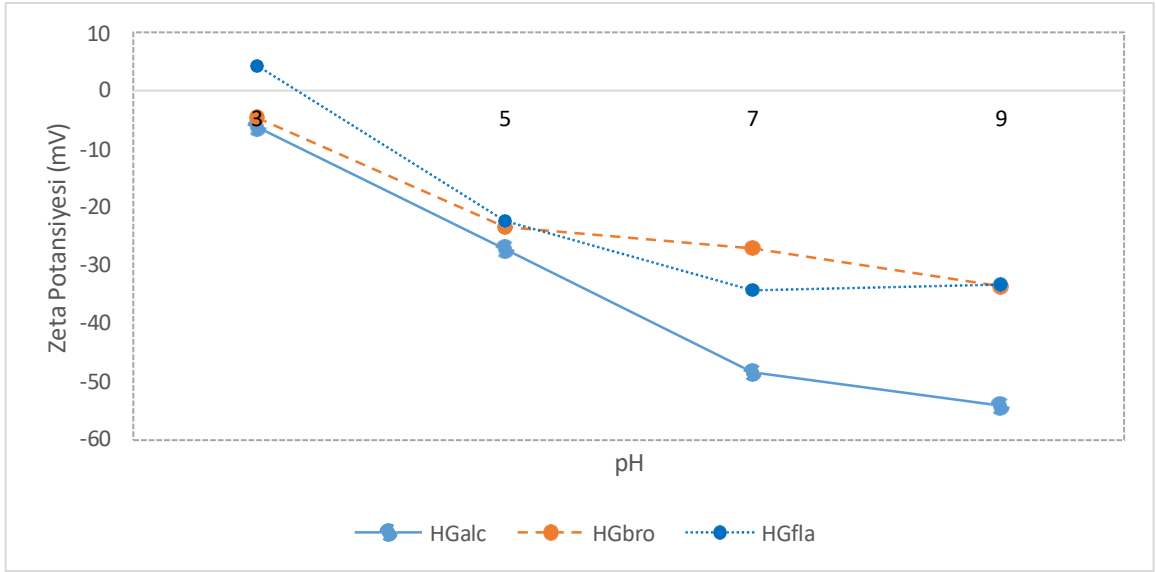


Şekil 4.7. Gümüş balığı hidrolizatlarının toplam SH₂ içeriği

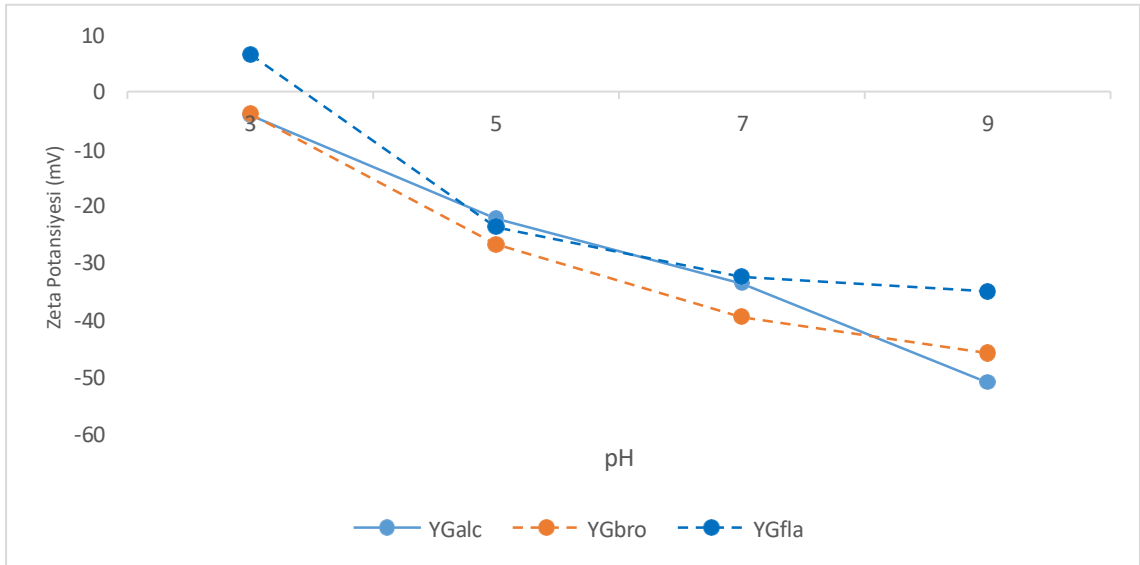
Farklı harfler istatistiksel farklılığı ($p < 0.001$) göstermektedir HGalc: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGbro: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGfla: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGalc: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGbro: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGfla: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme ile elde edilen hidrolizat.

4.12. Zeta potansiyel değerleri

Zeta potansiyeli, protein hidrolizatlarının elektriksel yük dengesini ve kararlılığını ifade eder. Aynı zamanda hidrolizatların çözeltide topaklanmadan kaçınma kabiliyetini gösterir (Nejat ve ark., 2017). Hidrolizatların izoelektrik pH'da üretilmesi, net yükü sıfırlanacağından parçacıklar arası itme kuvveti azalır, bu durum hızlı agregasyon ve çökelmeye yol açar (Youngren-Ortiz ve ark., 2017). Çalışmamızda Hirfanlı Baraj Gölü numuneleri -54.1 ± 3.53 ile $+4.24 \pm 0.42$ mV arasında (Şekil 4.8), Yamula Baraj Gölü numuneleri ise -50.8 ± 4.16 ile $+6.44 \pm 0.46$ mV arasında değişen değerlere sahiptir (Şekil 4.9). Yapılan istatistiksel analiz sonucu alkalaz ve bromelain kullanılarak üretilen numunelerin zeta potansiyel değerleri arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Benzer çalışma Tilapia balık jelatininden elde edilmiş olup, en yüksek zeta potansiyel değeri pH 3'te üretilmiştir (Subara ve Jaswir, 2021). Hidrolizatların zeta potansiyel değerlerinin pH artışı ile azaldığı gözlenmiş olup, sonuçlara dayanarak pH parametresinin zeta potansiyelini belirleyen önemli bir etmen olduğu belirlenmiştir (Subara ve Jaswir, 2021). En yüksek zeta potansiyel değerlerin, en düşük hidroliz derecesine sahip iki numunede (HGalc ve YGalc) tespit edilmesi göze çarpmış olup peptid uzunluğunda potansiyeli etkileyen diğer etmen olduğu gözlenmiştir (Yay ve ark., 2025).



Şekil 4.8. Hirfanlı Baraj Gölü gümüş balığı hidrolizatlarının zeta potansiyel değerleri
 HGbro: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, HGfla: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme enzimi ile elde edilen hidrolizat



Şekil 4.9. Yamula Baraj Gölü gümüş balığı hidrolizatlarının zeta potansiyel değerleri
 YGalc: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGbro: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, YGfla: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme ile elde edilen hidrolizat

4.13. Antimikrobiyal Özelliklerin Belirlenmesi

Bu çalışmada, iki farklı barajdan (Yamula ve Hirfanlı) avlanan gümüş balığından üç farklı proteolitik enzim (Alkalaz, Bromelain, Flavourzyme) kullanılarak elde edilen hidrolizatlarının antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiş ve Tablo 4.9’te gösterilmiştir. Hidrolizatların aktivitesi, dört farklı patojen mikroorganizmaya (*E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus*, *S. typhimurium*) karşı, farklı konsantrasyonlarda (1:1, 1:2 ve 1:4 µg/mL) agar kuyucuk difüzyon metodu ile test edilmiştir. Antimikrobiyal etki, 18 saatlik inkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zonlarının milimetre (mm) cinsinden ölçülmesiyle belirlenmiştir. *E. coli* üzerindeki en yüksek antimikrobiyal etki hem Hirfanlı hem de Yamula barajından avlanan gümüş balığı için flavourzyme enzimiyle elde edilen hidrolizat için belirlenmiştir. Konsantrasyonun azalmasıyla birlikte antimikrobiyal etkisinin de azaldığı görülmüştür. Benzer şekilde Turbot balığı (*Scophthalmus maximus*) üzerine yapılan bir çalışmada elde edilen peptidlerin *E.coli*’ye karşı yüksek inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir (Bi ve ark., 2020). *B. cereus* üzerindeki en yüksek antimikrobiyal etki ise Hirfanlı barajından avlanan gümüş balığından alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat için tespit edilmiştir. Diğer taraftan Yamula barajından avlanan gümüş balığından elde edilen hidrolizatlar arasında *B. cereus* üzerinde en yüksek antimikrobiyal etki bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat için tespit edilmiştir. Hidrolizatların *S. aureus*’a karşı antimikrobiyal etkisi diğer patojen mikroorganizmalara kıyasla daha az bulunmuştur, başka bir ifadeyle *S. aureus* için ölçülen zonlar daha küçük olduğu için hidrolizatlara karşı daha dirençli bulunmuştur. Yamula barajından avlanıp bromelain enzimi ve Hirfanlı barajından avlanıp flavourzyme enzimi ile üretilen hidrolizatlar *S. aureus*’a karşı daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Arjantinli croaker (*Umbrina canosai*) hidrolizatları üzerine yapılan bir çalışmada da *S.aureus* mikroorganizmanın elde edilen hidrolizatlarla inhibe edildiği gözlenmiştir (Da Rocha ve ark., 2018). *S. typhimurium*’a karşı ise hem Yamula hem de Hirfanlı barajlarından avlanıp alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizatlar daha yüksek antimikrobiyal etki sergilemiştir. Genel bir eğilim olarak, hidrolizatların antimikrobiyal aktivitesinin konsantrasyonla doğru orantılı olduğu gözlemlenmiştir. İncelenen tüm gruplarda, konsantrasyon azaldıkça (1:1’den 1:4’e doğru seyreltikçe) inhibisyon zonu çaplarının küçüldüğü tespit edilmiştir. Bu durum, beklenen doza bağımlı bir etkiyi doğrulamaktadır. En büyük zon çapı (33.5 mm) Hirfanlı barajından avlanan gümüş balıklarından alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat için *B. cereus*’a karşı tespit edilmişken, en düşük zon çapı (18.0 mm) Yamula

barajından avlanan gümüş balıklarından yine alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat için *S. aureus*'a karşı tespit edilmiştir. Oluşan zon çapları değerlendirildiğinde en büyük zon çapları alkalaz ve flavourzyme enzimleriyle elde edilen hidrolizatlardan olduğu tespit edilmiş olup bromelain enzimiyle üretilen hidrolizatların patojenler üzerindeki antimikrobiyal etkisi daha düşük bulunmuştur. Bu durum antimikrobiyal etki üzerinde hidrolizat üretimi için kullanılan enzimin önemi ortaya koymaktadır. Farklı lokasyonlardan avlanan gümüş balıklarından farklı enzimlerle elde edilen hidrolizatların patojenler üzerindeki antimikrobiyal etkisi enzim ve patojene göre değişkenlik göstermiş olup özellikle hidrolizat üretiminde kullanılan enzimin önemi göstermektedir.

Tablo 4.9. Gümüş balığı hidrolizatlarının antimikrobiyal değerleri (zon çapları)

Bakteriler	YG _{Alc}			YG _{Bro}			YG _{Fla}		
	1	2	4	1	2	4	1	2	4
<i>E. coli</i>	25 ^b	23 ^b	T.E.	30 ^a	29,5 ^a	24,5 ^a	31 ^a	29,5 ^a	27,5 ^a
<i>B. cereus</i>	28 ^b	26.5 ^a	22.5 ^a	29.5 ^a	25.5 ^b	22 ^a	27.5 ^b	22.5 ^b	22.5 ^b
<i>S. aureus</i>	18 ^c	T.E.	T.E.	24.5 ^b	T.E.	T.E.	20.5 ^c	T.E.	T.E.
<i>S. typhimurium</i>	29 ^a	25 ^{ab}	19 ^b	25.5 ^b	22.5 ^c	18 ^b	26.5 ^b	23.5 ^b	20 ^c
Bakteriler	HG _{Alc}			HG _{Bro}			HG _{Fla}		
	1	2	4	1	2	4	1	2	4
<i>E. coli</i>	23 ^b	T.E.	T.E.	28.5 ^a	24 ^b	23 ^a	30.5 ^a	26 ^a	T.E.
<i>B. cereus</i>	33.5 ^a	29 ^a	23 ^a	30.5 ^a	27 ^a	24 ^a	30.5 ^a	24.5 ^a	24 ^a
<i>S. aureus</i>	21,5 ^b	T.E.	T.E.	22 ^b	T.E.	T.E.	24 ^b	T.E.	T.E.
<i>S. typhimurium</i>	30 ^a	24.5 ^b	23 ^a	28.5 ^a	22.5 ^b	20 ^a	28.5 ^a	22 ^a	19 ^b

a,b : aynı satırda bulunan farklı harfler istatistiksel farklılığı ($p < 0.05$) göstermektedir HG_{Alc}: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, HG_{Bro}: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, HG_{Fla}: Hirfanlı Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme enzimi ile elde edilen hidrolizat, YG_{Alc}: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı alkalaz enzimi ile elde edilen hidrolizat, YG_{Bro}: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı bromelain enzimi ile elde edilen hidrolizat, YG_{Fla}: Yamula Baraj Gölü Gümüş balığı flavourzyme ile elde edilen hidrolizat. T.E: Tesir etmedi.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında Hirfanlı ve Yamula Baraj Gölü Gümüş balığından (*Atherina boyeri*) protein hidrolizatı üretmek, bu hidrolizatların fizikokimyasal (protein içeriği, zeta potansiyeli, FTIR analizi, aktif SH), teknolojik (çözünürlük, emülsiyon kapasitesi, köpük oluşturma, yağ bağlama) ve biyoaktif (antioksidan, antimikrobiyal ve antihipertansif) özelliklerini tespit etmek amacıyla mikrobiyal kökenli alkalaz, flavourzyme ile bitkisel kökenli bromelain enzim kullanılarak hidroliz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara ve literatür karşılaştırmalarına göre, balık protein hidrolizatları balık türüne ve enzim çeşidine göre farklılıklar göstermektedir. Kullanılan enzim çeşidinden etkilenen hidroliz derecesi düşük hidrolizatların yüksek antioksidan etki gösterdiği ve dolayısıyla antioksidan ajan olarak gıda, farmasötik, kozmetik ve hayvan yemi olarak kullanılabilceğini göstermektedir. Ayrıca bromelain ve alkalaz enzimleri ile elde edilen hidrolizatların rengi çok açık çıktığı için içecek endüstrisi ve diyet ürünlerinde kullanılabilceği düşünülmektedir. Aynı zamanda enzimatik hidroliz ile elde edilen balık hidrolizatları bakterilere karşı önemli antimikrobiyal etki göstermiştir. Kullanılan enzimatik hidroliz yöntemi kontrol edilebilirliği, güvenilirliği ve son ürünün toksik bileşen içermemesi açısından avantaja sahiptir. Bu yüzden, üretim koşullarının optimize edilmesi verimin artırılması ve üretilen peptidler üzerinde antimikrobiyal aktivite geliştirilmesinde rol oynayan biyoaktif peptitlerin daha iyi anlaşılmasında kritik öneme sahiptir. Dünya genelinde yaygın olan istilacı balık tür miktarı her geçen yıl artmakta dolayısıyla ekonomi ve ekolojiye verdiği zararda artmaktadır. İstilacı balık türlerinin alternatif yenilikçi teknolojilerle üretilen, biyoaktif ve fonksiyonel gıda bileşeni olarak sentetik katkı maddeleri yerine kullanılacak bir hammadde olarak değerlendirilmesi gerektiği ön plana çıkmaktadır. Bu amaçla farklı enzim ve işlem koşullarının denenmesi ile en verimli koşul çalışmalarının yapılması büyük önem arz etmektedir. Özellikle istilacı balıkların fonksiyonel ve biyoaktif özelliklerinin belirlenmesinde farklı ve yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Literatürde istilacı gümüş balığından protein hidrolizat üretimi ile ilgili çalışma bulunmamasından dolayı karşılaştırma yapılamamıştır. Karşılaştırmalar çalışma konusu dışındaki balıklar üzerine yapılan çalışmalar ile değerlendirilmiştir.

Son olarak; farklı lokasyonlardan avlanan gümüş balıklarından farklı enzimlerle elde edilen hidrolizatlar lokasyon farkından ziyade kullanılan enzim çeşidine göre değişkenlik göstermiş olup, özellikle hidrolizat üretiminde, kullanılan enzimin önemini göstermektedir. Bu hidrolizatın ticari önemini değerlendirdiğimizden yüksek protein içermesi onun farklı sektörlerde de kullanabilme potansiyelini ortaya çıkarmıştır.

KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., & Undeland, I. (2018). Structural, functional, and sensorial properties of protein isolate produced from salmon, cod, and herring by-products. *Food and Bioprocess Technology*, 11(9), 1733-1749.
- Adler-Nissen, J. (1986). *Enzymic hydrolysis of food proteins*.
- Akbal, S., & Öner, Z. (2021). Süt ve süt ürünlerinden elde edilen peptitlerin patojen mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkisi. *Kırklareli Üniversitesi Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2), 305-322.
- Alahmad, K., Noman, A., Xia, W., Jiang, Q., & Xu, Y. (2023). Influence of the enzymatic hydrolysis using flavourzyme enzyme on functional, secondary structure, and antioxidant characteristics of protein hydrolysates produced from bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Molecules*, 28(2), 519.
- Antonucci, F., Boglione, C., Cerasari, V., Caccia, E., & Costa, C. (2012). External shape analyses in *Atherina boyeri* (Risso, 1810) from different environments. *Italian journal of zoology*, 79(1), 60-68.
- Atar, H. H., & Ataman, T. G. (2016). İklim değişikliğinin su ürünleri yetiştiriciliği üzerindeki etkileri. *Ziraat Mühendisliği*(363), 17-22.
- Babji, A. S., Daud, N., & Najafian, L. (2019). Anti-oxidative, anti-inflammatory, anti-diabetic and anti-ACE hydrolysates derived from fish protein: a review of multifunctional peptides. *EC Nutrition*, 14(8).
- Bandekar, J. (1992). Amide modes and protein conformation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1120(2), 123-143.
- Batibay, H. (2020). *In vitro ve In vivo şartlarda yetiştirilen bittim (Pistacia khinjuk Stocks.) türünün etanol ekstralarının sitotoksik ve antihipertansif etkilerinin belirlenmesi* Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Becer, Z. A., & Bılgin, S. (2018). The Current Status And The Economic Assesment Of Sand Smelt (*Atherina boyeri* Risso, 1810) Introduced Inland Water Of Turkey. *International Journal of Environmental Trends (IJENT)*, 2(1), 35-43.
- Benjakul, S., & Morrissey, M. T. (1997). Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(9), 3423-3430.
- Bhaskar, N., & Mahendrakar, N. (2008). Protein hydrolysate from visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*): Optimization of hydrolysis conditions for a commercial neutral protease. *Bioresource Technology*, 99(10), 4105-4111.
- Bi, J., Tian, C., Jiang, J., Zhang, G.-L., Hao, H., & Hou, H.-M. (2020). Antibacterial activity and potential application in food packaging of peptides derived from turbot viscera hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(37), 9968-9977.
- Blanco, M., Vázquez, J. A., Pérez-Martín, R. I., & Sotelo, C. G. (2017). Hydrolysates of fish skin collagen: An opportunity for valorizing fish industry byproducts. *Marine drugs*, 15(5), 131.
- Bozkurt, F., Bekiroglu, H., Dogan, K., Karasu, S., & Sagdic, O. (2021). Technological and bioactive properties of wheat glutenin hydrolysates prepared with various commercial proteases. *Lwt*, 149, 111787.
- Cebi, N., Durak, M. Z., Toker, O. S., Sagdic, O., & Arici, M. (2016). An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins. *Food Chemistry*, 190, 1109-1115. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.065>

- Chalamaiah, M., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: a review. *Food Chemistry*, 135(4), 3020-3038.
- Chandran, B., Rameshkumar, G., & Ravichandran, S. (2009). Antimicrobial activity from the gill extraction of *Perna viridis* (Linnaeus, 1758). *Glob J Biotech Biochem*, 4(2), 88-92.
- Çetinkaya, S. (2008). *Eğirdir Gölünden avlanan gümüş balığı (Atherina boyeri, Risso 1810)ndan marinat yapımı ve bazı besinsel özelliklerinin tespiti* Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Çiçek, E., Sungur, S., Fricke, R., & Secer, B. (2023). Freshwater lampreys and fishes of Türkiye; an annotated checklist, 2023. *Turkish Journal of Zoology*, 47(6), 324-468.
- Da Rocha, M., Alemán, A., Bacca, G. C., Lopez-Caballero, M. E., Gomez-Guillen, C., Montero, P., & Prentice, C. (2018). Anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial effects of underutilized fish protein hydrolysate. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 27(5), 592-608.
- Dara, P. K., Elavarasan, K., & Aswathnarayan Shamasundar, B. (2020). Characterization of antioxidant and surface active properties of gelatin hydrolysates obtained from croaker fish skin. *International Aquatic Research*, 12(2), 116-126.
- Dekkers, E., Raghavan, S., Kristinsson, H. G., & Marshall, M. R. (2011). Oxidative stability of *Mahi mahi* red muscle dipped in tilapia protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 124(2), 640-645.
- Demircan, M. (2022). İklim Değişikliğinin Türkiye Denizlerine ve Su Ürünleri Yetiştiriciliğine Etkisi. *JENAS Journal of Environmental and Natural Studies*, 4(2), 96-108.
- Doyle, B. B., Bendit, E., & Blout, E. R. (1975). Infrared spectroscopy of collagen and collagen-like polypeptides. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 14(5), 937-957.
- Ekmekçi, F., Yalçın Özdilek, Ş., & Kırankaya, Ş. (2010). İstilaçı bir balık türü olan *Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel, 1846)'nın Hirfanlı Baraj Gölü'ndeki popülasyonunun üreme, beslenme ve büyüme özelliklerinin belirlenmesi. *TÜBİTAK-TOVAG Project Report*(107O718).
- El-Lahamy, A. A., Khalil, K. I., El-Sherif, S. A., & Mahmud, A. A. (2018). Microbial and Sensory Assessment of Sand Smelt Fish Burger and Finger during Frozen Storage. *Int. J. Food Process. Technol*, 5, 1-8.
- Elavarasan, K., Naveen Kumar, V., & Shamasundar, B. (2014). Antioxidant and functional properties of fish protein hydrolysates from fresh water carp (*Catla catla*) as influenced by the Nature of Enzyme. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 1207-1214.
- Erdem Büyükkiraz, M., & Kesmen, Z. (2022). Antimicrobial peptides (AMPs): A promising class of antimicrobial compounds. *Journal of applied microbiology*, 132(3), 1573-1596.
- Eroğlu, E. Ç. (2016). *Fındık protein hidrolizatlarının antihipertansif etkisinin (ACE inhibisyon aktivitesinin) belirlenmesi* Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Erol, N. D., Erdem, Ö. A., & Çaklı, Ş. (2017). Stability of fish protein hydrolysate from heads of gilthead sea bream (*Sparus aurata*), european sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during storage. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(3), 327-336.

- FAO. (2020). The state of world fisheries and aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome: FAO.
- Firestone, D. (1989). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. (*No Title*).
- Filik, G., Tekin, O. K., Filik, A. G., Çetinkaya, O., Doğan, Z., Çayan, H., Coşkun, İ., & Şahin, A. (2018). Yolk color parameters in eggs of Atak-S parents. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 1(1), 45-48.
- Fligner, K. L., & Mangino, M. E. (1991). Relationship of composition to protein functionality. In ACS Publications.
- García-Moreno, P. J., Batista, I., Pires, C., Bandarra, N. M., Espejo-Carpio, F. J., Guadix, A., & Guadix, E. M. (2014). Antioxidant activity of protein hydrolysates obtained from discarded Mediterranean fish species. *Food Research International*, 65, 469-476.
- García-Moreno, P. J., Perez-Galvez, R., Espejo-Carpio, F. J., Ruiz-Quesada, C., Pérez-Morilla, A. I., Martínez-Agustín, O., Guadix, A., & Guadix, E. M. (2017). Functional, bioactive and antigenicity properties of blue whiting protein hydrolysates: effect of enzymatic treatment and degree of hydrolysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(1), 299-308.
- Gbogouri, G., Linder, M., Fanni, J., & Parmentier, M. (2004). Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproducts hydrolysates. *Journal of food science*, 69(8), C615-C622.
- Geirsdottir, M., Sigurgisladottir, S., Hamaguchi, P. Y., Thorkelsson, G., Johannsson, R., Kristinsson, H. G., & Kristjansson, M. M. (2011). Enzymatic hydrolysis of blue whiting (*Micromesistius poutassou*); functional and bioactive properties. *Journal of food science*, 76(1), C14-C20.
- Grasso, F., Martínez, M. M. A., Turrini, F., Méndez Paz, D., Vázquez Sobrado, R., Orlandi, V., Janssen, M., Lian, K., Rombi, J., & Tiso, M. (2024). Antioxidant Marine Hydrolysates Isolated from Tuna Mixed Byproducts: An Example of Fishery Side Streams Upcycling. *Antioxidants*, 13(8), 1011.
- Guan, F., Chen, Y., Zhao, S., Chen, Z., Yu, C., & Yuan, Y. (2021). Effect of slurry ice during storage on myofibrillar protein of *Pseudosciaena crocea*. *Food Science & Nutrition*, 9(7), 3806-3814.
- Hailing, P. J., & Walstra, P. (1981). Protein-stabilized foams and emulsions. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 15(2), 155-203.
- Hajfathalian, M., Ghelichi, S., García-Moreno, P. J., Moltke Sorensen, A. D., & Jacobsen, C. (2018). Peptides: Production, bioactivity, functionality, and applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(18), 3097-3129.
- Halim, N., Yusof, H., & Sarbon, N. (2016). Functional and bioactive properties of fish protein hydrolysates and peptides: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 51, 24-33.
- Harnedy, P. A., & FitzGerald, R. J. (2012). Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 6-24.
- Honrado, A., Miguel, M., Ardila, P., Beltrán, J. A., & Calanche, J. B. (2024). From waste to value: fish protein hydrolysates as a technological and functional ingredient in human nutrition. *Foods*, 13(19), 3120.
- Hsu, K.-C. (2010). Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product. *Food Chemistry*, 122(1), 42-48.
- Ishak, N., & Sarbon, N. (2018). A review of protein hydrolysates and bioactive peptides deriving from wastes generated by fish processing. *Food and Bioprocess Technology*, 11, 2-16.

- Je, J.-Y., Qian, Z.-J., Byun, H.-G., & Kim, S. K. (2007). Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzymatic hydrolysis. *Process Biochemistry*, 42(5), 840-846.
- Ji, Y., Yang, X., Ji, Z., Zhu, L., Ma, N., Chen, D., Jia, X., Tang, J., & Cao, Y. (2020). DFT-calculated IR spectrum amide I, II, and III band contributions of N-methylacetamide fine components. *ACS omega*, 5(15), 8572-8578.
- Kinsella, J. E. (1981). Functional properties of proteins: possible relationships between structure and function in foams. *Food Chemistry*, 7(4), 273-288.
- Kişisel, D. (2006). Balık Üretimi ve Balıklandırma Politikası. *Balıklandırma ve Rezervuar Yönetimi Sempozyumu*, 61-68.
- Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2007). Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*, 102(4), 1317-1327.
- Kocazorbaz, E. K., Kanatsızoğlu, M., Çeker, H. T., & Menfaatli, E. (2020). Vatoz (*Dasyatis pastinaca*) Balığı Kas Dokusunun Enzimatik Hidrolizi ve Hidrolizatların Antioksidan ve Bakır Şelatlama Aktivitelerinin Değerlendirilmesi. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2), 680-687.
- Koç, S. (2016). Hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve işleme atıklarından elde edilen protein hidrolizatlarının besleyici, fonksiyonel ve biyoaktif özelliklerinin araştırılması.
- Korhonen, H., & Pihlanto, A. (2006). Bioactive peptides: production and functionality. *International dairy journal*, 16(9), 945-960.
- Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000a). Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(3), 657-666.
- Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000b). Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Critical reviews in food science and nutrition*, 40(1), 43-81.
- Masniar, M., Muchlisin, Z. A., & Karina, S. (2016). Pengaruh Penambahan Ekstrak Batang Nanas Pada Pakan Terhadap Laju Pertumbuhan dan Daya Cerna Protein Pakan Ikan Betok (*Anabas testudineus*). *J. Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 1(1), 35-45.
- Massoud, R., Hosseini, A. H., & Massoud, A. (2017). Functional properties of food proteins; gelation and stable foam. Proceedings of the 6th International Conference on Science and Engineering (ICES), Paris, France,
- Mutilangi, W., Panyam, D., & Kilara, A. (1996). Functional properties of hydrolysates from proteolysis of heat-denatured whey protein isolate. *Journal of food science*, 61(2), 270-275.
- Nadzri, F. A., Tawalbeh, D., & Sarbon, N. (2021). Physicochemical properties and antioxidant activity of enzymatic hydrolysed chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein as influence by alcalase and papain enzyme. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 36, 102131.
- Nejat, H., Rabiee, M., Varshochian, R., Tahriri, M., Jazayeri, H., Rajadas, J., Ye, H., Cui, Z., & Tayebi, L. (2017). Preparation and characterization of cardamom extract-loaded gelatin nanoparticles as effective targeted drug delivery system to treat glioblastoma. *Reactive and Functional Polymers*, 120, 46-56.
- Neklyudov, A., Ivankin, A., & Berdutina, A. (2000). Properties and uses of protein hydrolysates. *Applied biochemistry and microbiology*, 36, 452-459.

- Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M., & Assavanig, A. (2005). Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. *Journal of Food Engineering*, 70(4), 571-578.
- Okutan, G., & Boran, G. (2023). Balık Yağında Emülsiyon ve Enkapsülasyon Uygulamaları. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 28(1), 334-344.
- Oosterveer, P. (2008). Governing global fish provisioning: ownership and management of marine resources. *Ocean & Coastal Management*, 51(12), 797-805.
- Opazo-Navarrete, M., Burgos-Diaz, C., Garrido-Miranda, K. A., & Acuña-Nelson, S. (2022). Effect of enzymatic hydrolysis on solubility and emulsifying properties of Lupin proteins (*Lupinus luteus*). *Colloids and interfaces*, 6(4), 82.
- Özcan, T., & Delikanlı, B. (2011). The functional effects of whey protein additives for improvement of textural properties of foods.
- Panyam, D., & Kilara, A. (1996). Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. *Trends in Food Science & Technology*, 7(4), 120-125.
- Parmaksız, A., Eneş, N., Eği, K., & Koyuncu, İ. (2022). Fırat ve Dicle nehirlerinde yaşayan *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) türünün aminoasit profilinin araştırılması. *Turkish Journal of Bioscience and Collections*, 6(1), 1-5.
- Parvathy, U., Nizam, K., Zynudheen, A., Ninan, G., Panda, S., & Ravishankar, C. (2018). Characterization of fish protein hydrolysate from red meat of *Euthynnus affinis* and its application as an antioxidant in iced sardine.
- Petibois, C., & Deleris, G. (2006). Chemical mapping of tumor progression by FTIR imaging: towards molecular histopathology. *TRENDS in Biotechnology*, 24(10), 455-462.
- Pires, C., Leitão, M., Sapatinha, M., Gonçalves, A., Oliveira, H., Nunes, M. L., Teixeira, B., Mendes, R., Camacho, C., & Machado, M. (2024). Protein hydrolysates from salmon heads and cape hake by-products: comparing enzymatic method with subcritical water extraction on bioactivity properties. *Foods*, 13(15), 2418.
- Polat, N., Zengin, M., & Gümüş, A. (2011). İstilacı balık türleri ve hayat stratejileri. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 1 (4): 63-86. Şaşı, H. & Balık, S.(2003). The Distribution of Three Exotic Fishes in Anatolia, *Tr. J. of Zoology*, 27, 319-322.
- Pushpanathan, M., Gunasekaran, P., & Rajendhran, J. (2013). Antimicrobial peptides: versatile biological properties. *International journal of peptides*, 2013(1), 675391.
- Quaglia, G., & Orban, E. (1990). Influence of enzymatic hydrolysis on structure and emulsifying properties of sardine (*Sardina pilchardus*) protein hydrolysates. *Journal of food science*, 55(6), 1571-1573.
- Rahmanifarah, K., Shabanpour, B., Shaviklo, A. R., & Aalamani, N. (2014). Leaching and heating process as alternative to produce fish protein powder from Kilka (*Clupeonella cultiventris caspia*). *Nusantara Bioscience*, 6(1).
- Ramanathan, G., Singaravelu, S., Raja, M., Sobhana, S., & Sivagnanam, U. T. (2014). Extraction and characterization of collagen from the skin of *Arothron stellatus* fish A novel source of collagen for tissue engineering. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 4(3), 203-209.
- Rutherford, S. M. (2010). Methodology for determining degree of hydrolysis of proteins in hydrolysates: a review. *Journal of AOAC international*, 93(5), 1515-1522.
- Safandowska, M., & Pietrucha, K. (2013). Effect of fish collagen modification on its thermal and rheological properties. *International journal of biological macromolecules*, 53, 32-37.

- Sathivel, S., Bechtel, P., Babbitt, J., Smiley, S., Crapo, C., Reppond, K., & Prinyawiwatkul, W. (2003). Biochemical and functional properties of herring (*Clupea harengus*) byproduct hydrolysates. *Journal of food science*, 68(7), 2196-2200.
- Sathivel, S., Bechtel, P. J., Babbitt, J., Prinyawiwatkul, W., Negulescu, I. I., & Reppond, K. D. (2004). Properties of protein powders from arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*) and herring (*Clupea harengus*) byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16), 5040-5046.
- Sathivel, S., Smiley, S., Prinyawiwatkul, W., & Bechtel, P. J. (2005). Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. *Journal of food science*, 70(6), c401-c406.
- Sholahuddin, M. A., Retno Lastuti, N. D., & Amin, M. (2024). Effect Of Differences Bromelain Enzyme Concentration On Protein Hydrolysate From Waste Of Tilapia Viscera (*Oreochromis* sp.) On Antioxidant Activity. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 26(1).
- Slizyte, R., Mozuraityte, R., Martinez-Alvarez, O., Falch, E., Fouchereau-Peron, M., & Rustad, T. (2009). Functional, bioactive and antioxidative properties of hydrolysates obtained from cod (*Gadus morhua*) backbones. *Process Biochemistry*, 44(6), 668-677.
- Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y., & Nasri, M. (2007). Biochemical and functional properties of sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. *Food technology and biotechnology*, 45(2), 187-194.
- Subara, D., & Jaswir, I. (2021). The effect of processing parameters on the properties of fish gelatin hydrolysate nanoparticle. *J. Sci. Appl. Technol*, 1, 17-24.
- Şimşek, A., & Kılıç, B. (2016). Et Kaynaklı Biyoaktif Peptitler ve Fonksiyonel Özellikleri. *Gıda*, 41(4), 267-274.
- Şimşek, Ş. (2022). Angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase IV inhibitory activity of protein hydrolysates obtained from sunflower meal. *Turk J Agric Food Sci Technol*, 10(5), 918-924.
- Taheri, A., Anvar, S., Ahari, H., & Fogliano, V. (2013). Comparison the functional properties of protein Hydrolysates from poultry byproducts and rainbow trout. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(1), 154-169.
- Tamilmozhi, S., Veeruraj, A., & Arumugam, M. (2013). Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilized collagen from the skin of sailfish (*Istiophorus platypterus*). *Food Research International*, 54(2), 1499-1505.
- Tekle, Ş. (2022). *Balık atıklarından protein hidrolizatlarının üretilmesi ve özelliklerinin belirlenmesi* Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İstanbul, 100.
- Tekle, Ş. (2022). Yapı, İşlev, Kullanım ve Helallik Tartışmalarıyla Kollajen ve Jelatin. *Journal of Interdisciplinary Food Studies (Disiplinlerarası Gıda Çalışmaları Dergisi)*, 2(1), 41-50.
- Thuy, C., Lam, T., & Mc Commick, K. (2015). Biochemical and functional properties of fish protein isolate (FPI) from *Pangasius hypophthalmus* byproducts as influenced by time and degree of hydrolysis (DH). *International Food Research Journal*, 22(1).
- Tkaczewska, J., Borawska-Dziadkiewicz, J., Kulawik, P., Duda, I., Morawska, M., & Mickowska, B. (2020). The effects of hydrolysis condition on the antioxidant activity of protein hydrolysate from *Cyprinus carpio* skin gelatin. *Lwt*, 117, 108616.
- TUIK. (2025). *Avlanan Tatlisu Ürünleri Miktarı*.

- Tüysüz, B., Cakir, O., & Sahin, E. (2019). Bioactive peptides: formation and impact mechanisms. Proceedings of the 3rd International Conference on Advanced Engineering Technologies,
- Tylingo, R., Mania, S., Anna, P., Piątek, R., & Pawłowicz, R. (2016). Isolation and characterization of acid soluble collagen from the skin of african catfish (*Clarias gariepinus*), salmon (*Salmo salar*) and baltic cod (*Gadus morhua*). *Journal of Biotechnology & Biomaterials*, 6(2), 1-6.
- UG, Y., Bhat, I., Karunasagar, I., & BS, M. (2019). Antihypertensive activity of fish protein hydrolysates and its peptides. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(15), 2363-2374.
- Valcarcel, J., Sanz, N., & Vázquez, J. A. (2020). Optimization of the Enzymatic Protein Hydrolysis of By-Products from Seabream (*Sparus aurata*) and Seabass (*Dicentrarchus labrax*), Chemical and Functional Characterization. *Foods*, 9(10), 1503. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods9101503>
- Valero, Y., Saraiva-Fraga, M., Costas, B., & Guardiola, F. A. (2020). Antimicrobial peptides from fish: beyond the fight against pathogens. *Reviews in Aquaculture*, 12(1), 224-253.
- Vidal, A. R., Cansian, R. L., Mello, R. d. O., Kubota, E. H., Demiate, I. M., Zielinski, A. A. F., & Dornelles, R. C. P. (2019). Effect of ultrasound on the functional and structural properties of hydrolysates of different bovine collagens. *Food Science and Technology*, 40, 346-353.
- Wangkheirakpam, M., Mahanand, S., Majumdar, R., Sharma, S., Hidangmayum, D., & Netam, S. (2019). Fish waste utilization with reference to fish protein hydrolysate-a review. *Fish. Technol*, 56(3), 169-178.
- Wasswa, J., Tang, J., Gu, X.-h., & Yuan, X.-q. (2007). Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chemistry*, 104(4), 1698-1704.
- Woo, J.-W., Yu, S.-J., Cho, S.-M., Lee, Y.-B., & Kim, S.-B. (2008). Extraction optimization and properties of collagen from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) dorsal skin. *Food hydrocolloids*, 22(5), 879-887.
- Yavaşer, R. (2011). *Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması* Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yavuz, M., & Özçelik, B. (2016). Bitkisel protein izolatlarının fonksiyonel özellikleri. *Akademik Gıda*, 14(4), 424-430.
- Yay, C., Yesiltas, B., & Jacobsen, C. (2025). Effect of Combining Surfactants with Potato Protein Hydrolysates on Their Emulsifying and Antioxidant Properties in Fish-Oil-in-Water Emulsions. *Foods*, 14(11), 1974.
- Yilmaz, K. (1997). Gökkuşluğu (*Oncorhynchus mykiss*) ve kaynak alabalıklarının (*Salvelinus fontinalis*) farklı stoklama yoğunluklarına tepkileri Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Youngren-Ortiz, S. R., Hill, D. B., Hoffmann, P. R., Morris, K. R., Barrett, E. G., Forest, M. G., & Chougule, M. B. (2017). Development of optimized, inhalable, gemcitabine-loaded gelatin nanocarriers for lung cancer. *Journal of aerosol medicine and pulmonary drug delivery*, 30(5), 299-321.
- Zamorano-Apodaca, J. C., García-Sifuentes, C. O., Carvajal-Millán, E., Vallejo-Galland, B., Scheuren-Acevedo, S. M., & Lugo-Sánchez, M. E. (2020). Biological and functional properties of peptide fractions obtained from collagen hydrolysate derived from mixed by-products of different fish species. *Food Chemistry*, 331, 127350. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127350>

Zheng, Z., Wang, M., Li, J., Li, J., & Liu, Y. (2020). Comparative assessment of physicochemical and antioxidative properties of mung bean protein hydrolysates. *RSC advances*, *10*(5), 2634-2645.

EKLER

EK-1: Etik Kurul İzni



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 68429034/ 17
Konu: Onay belgesi

24.11.2022

Sayın: Prof. Dr. Mahmut YILMAZ


Sorumlu yürütücü olarak planladığınız “ Kayseri Yamula Baraj Gölü ve Kırşehir Hirfanlı Baraj Göllerinde Yaşayan Gümüş Balığı’ndan (*Atherina boyeri*) Protein Hidrolizat Üretimi ve Özelliklerinin Belirtilmesi” başlıklı araştırmanıza ait Etik Kurulu kararı ekte olup;

Gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Yusuf Kenan DAĞLIOĞLU
Etik Kurulu Başkanı

Ek: 1 Adet Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

Adres: Ahi Evran Üniversitesi Rektörlüğü Merkez Yerleşkesi, 40200 KIRŞEHİR
Telefon: 0386 280 4800

 <p style="text-align: center;">T.C. KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARLARI</p>			
Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Toplantı Saati	Karar Sayısı
23 / 11 / 2022	22	14: 00	1

Prof. Dr. Yusuf Kenan DAĞLIOĞLU başkanlığında yapılan Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu toplantısında aşağıdaki karar alınmıştır.

KARAR NO – 1: Araştırma yürütücüsü **Prof. Dr. Mahmut YILMAZ** Liderliğinde 50 adet balık üzerinde yapılması planlanan “ **Kayseri Yamula Baraj Gölü ve Kırşehir Hirfanlı Baraj Göllerinde Yaşayan Gümüş Balığı’ndan (*Atherina boyeri*) Protein Hidrolizat Üretimi ve Özelliklerinin Belirtilmesi**” adlı araştırmanın etik açıdan yapılabilirliğine **SARTLI** (*Tarım ve Orman Bakanlığından Proje Bazlı İzinin Alınması*) olarak ve konunun ilgili öğretim üyesine tebliğine oybirliği ile karar verildi.

Prof. Dr. Yusuf Kenan DAĞLIOĞLU
(Başkan)

Dr.Öğr.Üyesi. Zeynel Abidin ERBESLER
Üye

Doç.Dr. Atilla TAŞKIN
Üye

Doç.Dr. Ertuğrul KUL
Üye

Dr. Zikri GÜREL
Üye

Ecz. Suat YAĞMUR
Üye

Veteriner Hekim Demirel ERGÜN
Üye

(Form No: FR- 347 ; Revizyon Tarihi: .../.../...; Revizyon No: ...)

T.C.
AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
TAAHHÜTNAME

21/11/2022

Çalışmanın Tam Adı: Kayseri Yamula Baraj Gölü ve Karşehir Hırfanlı Baraj Göllerinde Yaşayan Gümüş Balığı'ndan (*Atherina boyeri*) Protein Hidrolizat Üretimi ve Özelliklerinin Belirlenmesi

Çalışma Ekibi (Adı - Soyadı, Ünvanı):
Doktora Öğrencisi İrem Ceren KIZILKÖY
Yüksek Lisans Öğrencisi İlknur ASLAN

Çalışmada Sorumlu Yürütücü:
Prof. Dr. Mahmut YILMAZ

Diğer Görevliler:

- 1- Yamula Barajı Bölge Balıkçıları
- 2- Hırfanlı Barajı Bölge Balıkçıları
- 3-
- 4-
- 5-

- Ahi Evran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesini okudum. Yönergeye uygun olarak çalışacağımı,
- Onay alınmış çalışmada; Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası bulunmayan kişilere deney hayvanlarında herhangi bir işlem yaptırmayacağımı,
- Çalışma sürecinde işlemlerde ve çalışma ekibinde yapılacak değişiklikler için Yerel Etik Kurul'un iznini alacağımı,
- Çalışmanın bitimini müteakip 3 ay içerisinde Yerel Etik Kurul'a bildireceğimi,
- Bu Çalışma süresince, Ahi Evran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergede yer alan etik ilkelere uyacağımı, beklenmeyen ters bir etki veya olay olduğunda derhal Yerel Etik Kurul'a bildireceğimi

Taahhüt ederim.

Çalışma Yürütücüsü
Adres: Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü

(Adı, Soyadı, İmzası)
Prof. Dr. Mahmut YILMAZ

Tel İş: 0 386 280 45 46

Cep: 0 505 319 18 20

E-posta: myilmaz@ahievran.edu.tr

(Form No: FR-354 ; Revizyon Tarihi: .../.../... ; Revizyon No: ...)

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	İrem Ceren KIZILKÖY
Uyruğu	T.C.
Orcid Numarası	0000-0002-1142-3864

EĞİTİM BİLGİLERİ	
Lisans	
Üniversite	Çukurova Üniversitesi
Fakülte	Fen Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	2011
Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	2019
Doktora	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tarımsal Biyoteknoloji
Mezuniyet Yılı	2025

Tezden Üretilen Makaleler ve Bildiriler
Kızılköy, C. İ., Tekle, Ş & Yılmaz, M. (2025). Kayseri Yamula ve Kırşehir Hirfanlı Baraj Gölü'nde Yaşayan Gümüş Balığı (<i>Atherina boyeri</i>)'ndan Protein Hidrolizat Üretimi, Uluslararası İstanbul Kongresi.