



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK
ANABİLİM DALI



**ALABALIK JELATİNLERİNDEN
ENZİMATİK HİDROLİZ YÖNTEMİYLE
PROTEİN HİDROLİZATI ÜRETİMİ VE
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

HAYRİ ERTEM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR

2025



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK
ANABİLİM DALI



**ALABALIK JELATİNLERİNDEN
ENZİMATİK HİDROLİZ YÖNTEMİYLE
PROTEİN HİDROLİZATI ÜRETİMİ VE
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

HAYRİ ERTEM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Şefik TEKLE

KIRŞEHİR

2025

KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI
ETİK BEYANI

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi 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 çerçevesinde 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 değerliklik 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.

27/06/2025

Hayri ERTEM

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa No

İÇİNDEKİLER DİZİNİ	II
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
TABLolar DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç	3
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. MATERYAL VE METOT	7
3.1. Materyal	7
3.1.1. Balık Derilerinin Hazırlanması	7
3.2. Metotlar	7
3.2.1. Gökkuşuğu Alabalık Jelatini Üretimi	7
3.2.2. Balık Jelatinlerinden Protein Hidrolizatı Üretimi	8
3.2.3. Hidroliz Derecesi (%) Tespiti	8
3.2.4. Protein Miktarı Analizi	8
3.2.5. Zeta Potansiyel Değerleri.....	9
3.2.6. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektroskopi Analizi.....	9
3.2.7. UV-vis absorpsiyon spektrumları	9
3.2.8. Emülsiyon Aktivitesi ve Stabilitesi.....	10
3.2.9. Köpük Kapasitesi ve Stabilitesi	10
3.2.10. Yağ Bağlama Kapasitesi.....	11
3.2.11. Renk Özelliklerinin Belirlenmesi	11
3.2.12. DSC Analizi.....	11
3.2.13. Antioksidan Analizi	12
3.2.14. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	12
3.2.15. İstatistiksel Analiz.....	12
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	13
4.1. Hidroliz Derecesi (%)	13
4.2. Protein Miktarı	13

4.3. Zeta Potansiyel	14
4.4. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektroskopi Analizi	15
4.5. UV-Vis Karakterizasyonu	16
4.6. Emülsiyon Aktivitesi ve Stabilitesi	17
4.7. Köpük Kapasitesi ve Stabilitesi.....	17
4.8. Yağ Bağlama Kapasitesi	18
4.9. Renk Özellikleri	19
4.10. DSC	20
4.11. Antioksidan Analizi.....	21
4.12. Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....	22
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	25
KAYNAKLAR	27
EKLER	33
ÖZGEÇMİŞ	35

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisansa başlamamda ve yüksek lisans ders sürecinde kendisini tanıdığım günden bu yana gösterdiği sakin ve sabırlı hali ile her zaman bana örnek olmasının yanı sıra bir bilim insanının nasıl çalışması gerektiğini kendisinden öğrendiğim değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Şefik TEKLE'ye büyük bir içtenlikle teşekkür ederim.

Bu tez çalışmam süresince bana her zaman destek olan, sevgisiyle güç veren değerli eşim Hacite Ertem'e, hayatımın neşesi ve ilham kaynağı sevgili kızım E.Tuğba Ertem'e ve gurur duyduğum oğlum Hakan Ertem'e sonsuz teşekkürler ederim. Varlığınız, bu yolculukta en büyük dayanağım oldu.

Haziran, 2025

Hayri ERTEM

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALABALIK JELATİNLERİNDEN ENZİMATİK HİDROLİZ YÖNTEMİYLE PROTEİN HİDROLİZATI ÜRETİMİ VE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Hayri ERTEM

KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Şefik TEKLE
Yıl: 2025 Sayfa: 35
Jüri: Dr. Öğr. Üyesi Şefik TEKLE
Doç. Dr. Gökhan FİLİK
Doç. Dr. Emre YAVUZER

Küresel balık üretiminin 2030 yılında 204 milyon tona ulaşacağı tahmin edilmektedir. İnsan tüketimine sunulan balıklardan, türlerine ve işleme seviyesine bağlı olarak %20 - %80 arasında balık atığı ortaya çıkmaktadır. Bu atıkların yaklaşık %50'den fazlası atılmakta ve çevre kirliliğine neden olmaktadır. Bu atıklarda bulunan değerli bileşenlerden biri de kolajen proteindir. Bu işlenmemiş kolajenin jelatin olarak kullanımı mümkün olmakla beraber kollajen hidrolizati şeklinde gıda ve kozmetik sanayii için kullanım alternatifleri bulunmaktadır. Bu çalışmada atık alabalık derilerinden üretilen jelatinlerden enzimatik hidroliz yöntemiyle alcalase ve flavourzyme enzimleri kullanılarak kollajen hidrolizati üretimi, teknolojik ve biyoaktif özelliklerinin tespiti gerçekleştirilmiştir. Alcalase hidrolizatlarında %18.30, flavourzyme hidrolizatlarında %3.25 hidroliz derecesi tespit edilmiştir. Her iki hidrolizat numunesinin maksimum ultraviyole absorpsiyon pikleri 284 nm dalga boyunda görülmüştür. Ayrıca her iki hidrolizat numunesinin zeta potansiyel değerleri pH 9'da maksimum değerine ulaşmıştır. Alcalase hidrolizatlarının emülsiyon stabilitesi, köpük kapasitesi ve stabilitesi daha yüksek olarak belirlenirken flavourzyme hidrolizatlarının emülsiyon aktivitesi ve yağ bağlama kapasitesi daha yüksektir. Bununla birlikte flavourzyme hidrolizatlarının tüm konsantrasyonlarında (15 mg/mL-30 mg/mL) DPPH radikal temizleme aktivitesi (%64.37-%73.41) daha yüksek bulunmuştur. Sonuçlar değerlendirildiğinde alabalık jelatinlerinden elde edilen hidrolizatların hem teknolojik hem de biyoaktif özelliklerinin başta gıda sanayii olmak üzere çeşitli sektörlerde kullanım fırsatları sunduğu görülmektedir. Sonuç olarak atık olarak ortaya çıkan balık işleme endüstrisi atıklarının değerlendirilmesi adına yeni bir alternatif oluşturulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Alabalık jelatin hidrolizati, Biyoaktif peptit, Antioksidan aktivite, Teknolojik özellikler.

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

PRODUCTION OF PROTEIN HYDROLYSATE FROM TROUT GELATINE BY ENZYMATIC HYDROLYSIS METHOD AND DETERMINATION OF ITS PROPERTIES

Hayri ERTEM

KIRŞEHİR AHİ EVRAN UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF GENETICS AND BIOENGINEERING

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Şefik TEKLE
Year: 2025 Pages: 35
Juries: Assist. Prof. Dr. Şefik TEKLE
Assos. Prof. Dr. Gökhan FİLİK
Assos. Prof. Dr. Emre YAVUZER

Global fish production is estimated to reach 204 million tons in 2030. Fish waste is generated between 20% and 80% of fish from fish offered for human consumption, depending on their species and level of processing. More than 50% of these wastes are disposed of and cause environmental pollution. One of the valuable components found in these wastes is collagen protein. Although it is possible to use this unprocessed collagen as gelatin, there are alternatives for use in the food and cosmetics industry in the form of collagen hydrolysate. In this study, the production of collagen hydrolysate from gelatin produced from waste trout skins by using alcalase and flavourzyme enzymes by enzymatic hydrolysis method and the determination of its technological and bioactive properties were carried out. The degree of hydrolysis was determined as 18.30% in Alcalase hydrolysates and 3.25% in flavourzyme hydrolysates. The maximum ultraviolet absorption peaks of both hydrolysate samples were seen at a wavelength of 284 nm. In addition, the zeta potential values of both hydrolysate samples reached their maximum value at pH 9. The emulsion stability, foam capacity and stability of Alcalase hydrolysates are determined to be higher, while the emulsion activity and oil binding capacity of flavourzyme hydrolysates are higher. However, DPPH radical scavenging activity (64.37%-73.41%) was found to be higher at all concentrations (15 mg/mL-30 mg/mL) of flavourzyme hydrolysates. When the results are evaluated, it is seen that both the technological and bioactive properties of hydrolysates obtained from trout gelatins offer opportunities for use in various sectors, especially in the food industry. As a result, a new alternative has been created for the evaluation of fish processing industry wastes generated as waste.

Key Words: Trout gelatin hydrolysate, Bioactive peptide, Antioxidant activity, Technological properties.

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 4.1. Alabalık jelatin hidrolizatlarının teknolojik özellikleri **18**

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 4.1. Alabalık jelatin hidrolizatlarının hidroliz derecesi	14
Şekil 4.2. Alabalık hidrolizatlarının zeta potansiyel değerleri.....	15
Şekil 4.3. Alabalık hidrolizatlarının FT-IR değerleri.....	16
Şekil 4.4. Alabalık jelatini ve hidrolizatlarının UV-VIS karakterizasyonu	17
Şekil 4.5. Alkalase ve flavourzyme jelatin hidrolizatının DSC analizi	20
Şekil 4.6. Alabalık jelatin hidrolizatlarının DPPH radikal temizleme aktivitesi	22

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama	
<i>w/v</i>	:	Ağırlık/hacim
<i>N</i>	:	Azot
<i>H</i>	:	Hidrojen
<i>HCl</i>	:	Hidroklorik asit
<i>C</i>	:	Karbon
<i>m</i>	:	Metre
<i>mPas</i>	:	Mili Paskal saniye
<i>mg</i>	:	Miligram
<i>mL</i>	:	Mililitre
<i>mmol</i>	:	Milimol
<i>mV</i>	:	Milivolt
<i>Nm</i>	:	Nanometre
<i>O</i>	:	Oksijen
ΔE	:	Renk farklılığı
$^{\circ}C$:	Santigrad derece
<i>cm</i>	:	Santimetre
<i>NaOH</i>	:	Sodyum hidroksit
%	:	Yüzde
Kısaltmalar	Açıklama	
ABTS	:	2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt
DPPH	:	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
Aalc	:	Alabalık alcalase
Afla	:	Alabalık flavourzyme
ACE	:	Angiotensin converting enzyme
Tg	:	Camsı geçiş sıcaklığı
rpm	:	Dakika başına devir
Da	:	Dalton
DSC	:	Differential scanning calorimetry
EAI	:	Emülsiyon Aktivite İndeksi
ESI	:	Emülsiyon Stabilite İndeksi
Tm	:	Erime sıcaklığı
FTIR	:	Fourier Transform Infrared
HD	:	Hidroliz derecesi
kDa	:	Kilo Dalton
KOK	:	Köpük Oluşturma Kapasitesi
KS	:	Köpük Stabilitesi
MIC	:	Minimum inhibitör konsantrasyon
p/v	:	Protein/hacim
TSA	:	Triptik Soya Agar
YBK	:	Yağ Bağlama Kapasitesi

1. GİRİŞ

Son yıllarda, özellikle sürdürülebilir gıda üretimi ve atık yönetimi bağlamında, balıkçılık endüstrisi yan ürünlerinin değerlendirilmesi önemli ilgi görmektedir. Baş kesme, kabuk çıkarma, deri soyma, bağırsak kesme, yüzgeç ve pul çıkarma, filetolama, yıkama ve diğer ilgili işlemler gibi merkezi ön işleme faaliyetleri, yan ürün olarak önemli miktarlarda katı atık ve atık su üretir (Tabarestani ve ark., 2024). Çoğunlukla atık olarak görülen balık derisi, gıda, kozmetik ve biyomedikal endüstrilerinde çeşitli uygulamalarda değerlendirilebilen jelatin ve biyoaktif bileşikler açısından zengin bir kaynaktır. Balık derisi jelatininin ekstraksiyonu ve değerlendirilmesi, çevresel kirliliğin azaltılmasına katkı sağlamakla birlikte, aynı zamanda atık olarak değerlendirilen bu yan üründen yüksek katma değerli ürünlerin elde edilmesine olanak tanımaktadır (Tekle ve ark., 2022). Son zamanlarda yapılan araştırmalar, balık derisi jelatininin yağ bağlama kapasitesi, emülsifiye edici özellikler gibi işlevsel özellikleri ve gıda ürünlerinin ve diğer uygulamaların kalitesini artırmak için hayati önem taşıyan antioksidan aktiviteler açısından potansiyelini göstermektedir (Cheng-cheng ve ark., 2017; Nurilmala ve ark., 2020; Ruan ve ark., 2023). Ayrıca, balık derisi jelatini ve hidrolizatlarının biyoaktif özellikleri, özellikle antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri bakımından önemli bir araştırma konusu olarak karşımıza çıkmaktadır. Söz konusu özellikler, gıda ürünlerinin besin değerini artırmanın yanı sıra, gıda güvenliğini iyileştirme ve raf ömrünü uzatma potansiyeli taşıyan fonksiyonel avantajlar sunmaktadır (Pezeshk ve ark., 2019).

Jelatin, esas olarak hayvanların bağ dokularında doğal olarak oluşan yapısal bir protein olan kolajenin kısmi hidrolizi yoluyla elde edilen bir grup protein fraksiyonudur (Boran ve Regenstein, 2010). Bol miktarda bulunan hayvansal proteinler arasında, jelatinin öncüsü olan kolajen, en yaygın protein ve biyopolimer olarak öne çıkmaktadır (Ozcan ve ark., 2023).

Jelatin, küçük peptitlere hidrolize edildiğinde jelleşme kabiliyetini kaybetse de bu tür ürünler için genişleyen bir pazar vardır. Bu tür hidrolizatlar, jelatinin kimyasal, termal veya enzimatik hidroliz yöntemleriyle veya bu yöntemlerin kombinasyonu ile üretilmekte olup, üretim süreci sterilizasyon, konsantrasyon ve son aşamada sprey kurutma işlemlerini içermektedir. Bu nedenle brüt bileşimleri, doğal proteinine (%89-93 protein, %2 kül ve %5-9 su) çok benzer. Jelatin hidrolizatları tipik olarak 25°C'de %35'lik çözelti içinde 20-50 mPas viskoziteye sahiptir. Diğer birçok protein hidrolizatının aksine, jelatin hidrolizatları acı bir tada sahip değildir ve bu nedenle hazır çaylar, içecekler, az yağlı sürülebilir ürünler, az yağlı peynirler, konserve etler, marshmallowlar, tahıl çubukları ve

pastiller gibi çok çeşitli ürünlerde kullanılabilir. Besin takviyeleri, bağlayıcı maddeler, köpürtücü ve emülsifiye edici maddeler ve taşıyıcılar olarak kullanılmak üzere açık krem renkli suda çözünür tozlar olarak tedarik edilirler. 3.000-20.000 Dalton aralığında moleküler ağırlıklara sahip çok çeşitli jelatin hidrolizatları mevcuttur. Sıfır Bloom değerine sahip jelatinler jelleşme özelliği göstermemekle birlikte, şekerleme ürünlerinde karbonhidrat ikamesi olarak, protein kaynağı şeklinde, köpük stabilizatörü olarak ve tahıl bazlı çubuk ürünlerde bağlayıcı ajan olarak fonksiyonel özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır. Tipik bir şekersiz sakız yaklaşık %20 jelatin hidrolizat ve %7 geleneksel jelatin içerebilirken, müsli bir çubuk %23 hidrolize jelatin içerebilir. Süt endüstrisinde bu hidrolizatlar, özellikle köpük stabilizasyonu amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. %1-3 konsantrasyonda uygulanan yüksek moleküler ağırlıklı hidrolizatlar, kremi ve yumuşak doku karakteristiği kazandırmanın yanı sıra, ürünlerde yüksek hacim artışı sağlayarak fonksiyonel avantajlar sunmaktadır. Et endüstrisinde, %1,5-2 ilavesinin jöle ve yağ birikintilerini üçte iki oranında azaltabildiği ince homojenize edilmiş konserve etlerde, pişirme kayıplarını azaltmak ve dilimlenebilirliği iyileştirmek için yaklaşık %2 oranında pişmiş sosislerde, oksidatif değişiklikleri ve dondurucu yanmasını önlemek için donmuş et üzerinde yenilebilir filmler olarak (geleneksel jelatin ile birlikte) kullanılmıştır. Ürüne kremi pürüzsüz bir kıvam vermek için çorbaların, sosların ve hazır yemeklerin imalatında ve bağlayıcı madde olarak işlev gördükleri düşük yağlı et ezmelerinde daha yüksek moleküler ağırlıklı hidrolizatlar kullanılmıştır. Hidrolizat jelatin, sporcular için çeşitli enerji içeceklerinde de kullanılır (Haug ve Draget, 2011).

Jelatin peptidleri, yağlara karşı yüksek afiniteye sahip olan ve daha iyi emülsifiye edici özelliklere sahip olan hidrofobik amino asitler bakımından zengindir, bu nedenle antioksidan özelliklere sahip olabilir. Birçok çalışma, jumbo kalamar derisi, jumbo uçan kalamarın iç ve dış tunikleri (*Dosidicus gigas*), Ton Balığı (*Thunnus spp.*) ve Halibut derileri (*Hypoglossus spp.*), mavi köpekbalığı (*Prionace glauca*) derisi, Nil Tilapia (*Oreochromis niloticus*) derisi ve Denizanası (*Rhopilema esculentum*) dahil olmak üzere sucül jelatin hidrolizatlarından antioksidan peptidlerin çıkarılmasına odaklanmıştır (Ranasinghe ve ark., 2022).

1.1. Amaç

Bu tez çalışmasında, atık gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) derilerinden ekstraksiyon yöntemiyle balık jelatini üretimi yapılmış ve sonrasında enzimatik hidroliz (alcalase ve flavourzyme) işlemiyle balık protein hidrolizati üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen protein hidrolizatlarının teknolojik özellikleri (emülsiyon, köpük, yağ ve su bağlama, renk vb.), antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri belirlenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Ticari balık jelatini (deri) + papain kullanılarak yürütülen RSM (Response Surface Methodology) çalışmasında, enzim/substrat oranı %2, 56.8 °C ve 2.11 saatlik hidrolizle elde edilen %50.1 hidroliz derecesi, DPPH ve ABTS testlerinde sırasıyla %96.8 ve 9.80 mM Trolox aktivitesiyle ilişkilendirilmiştir (You ve ark., 2010).

Anjiyotensin-I dönüştürücü enzim (ACE) inhibisyonu, balık jelatin hidrolizatlarının hipertansiyon tedavisinde potansiyelini ortaya koymaktadır. Örneğin, somon jelatin hidrolizatlarının IC₅₀ değerleri 0.1-1.0 mg/mL aralığında bulunmuştur (Alemán ve ark., 2011).

Tilapia derisi jelatini, trypsin ve flavourzyme ile farklı hidroliz sürelerinde işlenmiş, ABTS, DPPH, •OH süpürücü aktiviteleri ve linoleik yağ peroksidasyon inhibisyonu ölçülmüştür. 60 dk sonrası özellikle flavourzyme ile elde edilen hidrolizat, hem DPPH hem lipid peroksidasyonu engellemede en yüksek aktivite göstermiş, sindirim simülasyonu sonrası da bu aktivitenin korunduğu raporlanmıştır (Cheng-cheng ve ark., 2017)

Nil tilapia derisinden elde edilen jelatin, antioksidan hidrolizatı üretmek için zencefil proteazı ile hidrolize edilmiş ve üç balık derisi jelatin hidrolizat fraksiyonu (FSGHF'ler) ultrafiltrasyon ile elde edilmiştir. Özellikle en düşük moleküler ağırlığı (1000 Da'nın altında) gösteren FSGHF3'ün, Pept1-p62-Nrf2 kaskadı yoluyla glutatyon sentezini indükleyebileceğini ve oksidatif stresi önleyebileceğini ve bu nedenle gastrointestinal işlev bozukluğu için işlevsel bir gıda olarak kullanılabilirliği belirlenmiştir (Zheng ve ark., 2018).

Sarı yüzgeçli ton balığı derilerine alcalase ile 3 saatlik hidroliz sonrası hem kolajen hem jelatin için yaklaşık %45–53 hidroliz derecesi değerleri elde edilmiş; 3–10 kDa fraksiyonlarda güçlü antioksidan aktiviteler kaydedilmiştir (Nurilmala ve ark., 2020).

Ticari balık jelatin hidrolizatlarının, vakumlu gökkuşuğu alabalık filetosuna (*Oncorhynchus mykiss*) eklendiğinde mikrobiyal büyüme yavaşlatıldığı, pH ve redoks potansiyelindeki değişikliklerle raf ömrünün uzadığı rapor edilmiştir (Barcellos ve ark., 2020).

Gümüş sazan (*Hypophthalmichthys molitrix*) pullarından farklı ekstraksiyon yöntemleri ile üretilen jelatinlerin yağ bağlama değerleri incelenmiştir. Asidik ekstraksiyon ile en yüksek yağ bağlama kapasitesi (11.8 g/g), ardından termal (9.5 g/g) ve enzimatik (5.3 g/g) yöntemler sıralanmıştır. Bu durum, ekstraksiyon yöntemi

değişikliğinin lipid etkileşimini ve bağlama kapasitesini doğrudan etkilediğini göstermektedir (Xu ve ark., 2021).

Tilapia (*Oreochromis sp.*) pullarında ekstrüzyon ön işlemi sonrası pepsin + pankreatin ile hidroliz edilen jelatin; ultrafiltrasyonla (<3 kDa) elde edilen TSGH4 fraksiyonunun hem DPPH hem de genel antioksidan aktivite göstergelerinde anlamlı yükselme sağladığı raporlanmıştır. Bu fraksiyondan TSGH4-6-2-b alt-fraksiyonunda GYDEY ve EPGKSGEQGAPGEAGAP adlı iki peptit tanımlanmış; bu peptitlerin güçlü doğal antioksidan potansiyele sahip olduğu öne sürülmüştür (Shiao ve ark., 2021).

Yüksek derecede yapılan hidroliz (>6 saat) sonucu oluşan jelatin hidrolizatı peptitlerinin, *E. coli*'ye karşı minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) değerini 2.66 mg/mL'ye düşürmüştür; aynı örneklerde angiotensin converting enzyme (ACE) ve DPP-IV inhibitör aktivitesi de artmıştır (Armin Mirzapour-Kouhdasht ve ark., 2021). Bu, antimikrobiyal etkinliğin hidroliz derecesiyle paralel olduğunu göstermektedir.

Alcalase ve actinidin kombinasyonu ile hazırlanan Sargılı uskumru (*Barred mackerel*) jelatin hidrolizatları, özellikle ısıya dayanıklı peptitler olarak tanımlanmış ve antioksidan mekanizması + antibakteriyel etki yönünden incelenmiş; özellikle karbonatlı içecek formülasyonlarında güçlü potansiyel sergilemiştir (A. Mirzapour-Kouhdasht ve ark., 2021).

Deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*) deri jelatin peptid fraksiyonları, düşük hidroliz derecesi (<10 %) ile elde edildiğinde emülsifikasyon kapasitesi ve stabilitesi üzerinde olumlu etki göstermiştir. Ancak, jelatine kıyasla hidrolizatların emülsiyon indekslerinde düşüş gözlemlenmiştir (Tekle ve ark., 2022).

Alcalase/Savinase ile hazırlanmış balık jelatini hidrolizatları, köpük kapasitesi ve stabilitesi açısından değerlendirilmiştir. %0,5 çözeltide Ultra-Turrax ile çalkalanan örneklerde köpük hacmi başlangıçta ölçülmüş, ardından 3. ve 10. dakikalardaki hacim değişimiyle köpük stabilitesi hesaplanmıştır. Stabil köpük hacimleri oluşturduğu belirlenmiştir (Tekle ve ark., 2024).

Optimizasyon yaklaşımıyla üretilen balık unu hidrolizatlarında; en yüksek yağ bağlama kapasitesi değeri 4.79 g yağ/g protein olarak elde edilmiştir. Optimal şartlar: düşük enzim/substrat oranı (%1 E/S) ve kısa hidroliz süresi (60 dk)dır. Hidroliz derecesi ve süre arttıkça yağ bağlama kapasitesi düşmektedir (Özgen, 2024).

3. MATERYAL VE METOT

Bu bölümde, araştırmanın materyalleri, hammaddesinin hazırlanması, analiz yöntemleri ve istatistiksel analizleri ayrıntılı biçimde açıklanmıştır.

3.1. Materyal

Alcalase® (protease from *Bacillus licheniformis*), Flavourzyme® (protease from *Aspergillus oryzae*), 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), sodium dodecyl sulfate (SDS) ve Phosphate buffered saline (PBS), Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Taufkirchen, Germany) firmasından alınmıştır. Diğer tüm kimyasal ve çözücüler, analitik derecedir.

3.1.1. Balık Derilerinin Hazırlanması

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), derileri Kırşehir ilinde faaliyet gösteren firmalardan temin edilmiştir. Fileto işlemi sonucunda elde edilen deriler soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılmıştır. Sonrasında atık deriler soğuk musluk suyu ile yıkanmış ve suları süzölmüştür. Temizlenmiş atıklar bıçak yardımıyla 0.5 x 0.5 cm² boyutta küçük parçalara kesilmiştir. Jelatin üretiminde kullanılan bu deriler, ekstraksiyon aşamasına kadar buzdolabında (+4°C) tutulmuştur.

3.2. Metotlar

Bu bölümde, araştırmanın analiz yöntemleri ve istatistiksel analizleri ayrıntılı biçimde açıklanmıştır.

3.2.1. Gökkuşığı Alabalık Jelatini Üretimi

Balık derilerinden jelatin üretimi, Tekle (2022) tarafından belirtilen yönteme göre yapılmıştır. Balık derileri ilk olarak NaOH (5:1 v/w, 0.55 N, 67.5 dk., 5°C) alkali çözeltisi ve sonrasında HCl (5:1 v/w, 0.1 N, 45 dk., 5°C) asit çözeltisiyle muamele edilmiştir. Her alkali ve asit muamele işleminden sonra deriler, distile suyla (5:1 v/w, 5°C) oda sıcaklığında yıkanmış ve 4 katlı tülbentten geçirilerek el ile sıkılmıştır. Sonrasında su banyosunda (Mettler WNB45, Schwabach, Germany) saf su ile ekstraksiyon (4:1 v/w, 50°C, 3 sa) işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemine başlamadan önce, numune ve su banyosu sıcaklıklarının dengelenmesi amacıyla 15 dakikalık bir dengeleme süresi uygulanmış ve proses bu sürenin sonunda başlatılmıştır. Ekstraksiyondan sonra 4 katlı tülbentten filtreleme yapılarak balık derileri uzaklaştırılmıştır. Jelatin solüsyonları cam kaplara koyularak 60 °C'de yaklaşık 72 saat etüvde (Binder GmbH ED240, Germany) kurutulmuştur. Jelatin, yaprak şeklinde elde edilmiş ve kullanıma kadar polietilen ambalajlarda kuru ortamda depolanmıştır.

3.2.2. Balık Jelatinlerinden Protein Hidrolizatı Üretimi

Alabalık jelatininden saf su kullanılarak %5'lik (w/v) çözelti hazırlanmış ve homojen bir şekilde çözündürülmüştür. 0.1 M NaOH çözeltisi ile alcalase enzimi için pH 8.0'e (60°C) ve flavourzyme için pH 7.0'ye (50°C) ayarlanmıştır. Her bir solüsyonda enzim:substrat oranı % 2.5 olarak kullanılmış ve 3 saat hidroliz işlemi gerçekleştirilmiştir. İlk 60 dk içinde her 15 dakikada bir; 60 dakikadan sonra ise her 30 dakikada bir olmak üzere pH ölçümü ve 0.1 M NaOH ile pH ayarlaması yapılmıştır. Hidrolizi sonlandırmak ve enzim inaktivasyonu için solüsyonlar, 90°C'de 10 dk süreyle su banyosunda sıcaklık işlemine tabi tutulmuştur. Oda sıcaklığına kadar soğutulan solüsyonlar, 4.000 xg'de 20 dk (5°C'de) süreyle santrifüj edilmiştir. Solüsyonlar 60°C etüvde kurumaya bırakılmış ve kuru toz halindeki hidrolizatlar ambalajlanarak depolanmıştır.

3.2.3. Hidroliz Derecesi (%) Tespiti

Hidroliz derecesinin (HD) belirlenmesinde pH stat metodu kullanılmıştır (Blanco ve ark., 2017). pH-stat yöntemi, reaksiyonla ortaya çıkan veya harcanan hidrojen iyonları sebebiyle meydana gelen pH'daki değişimi sabitlemek için yararlanılan bir metottur. Bu metotta hidroliz derecesi, hidroliz reaksiyonu esnasında serbest bir forma geçen protonların ototitrasyonu ile eklenen baz miktarının tespit edilmesiyle belirlenmektedir. Hidroliz derecesi parçalanmış peptid bağlarının (h) birim ağırlık başına toplam bağ sayısına (h_{tot}) oranı olarak tanımlanır. Hidroliz derecesinin hesaplanmasında aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır.

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

B : Baz miktarı

N_b : Baz normalitesi

α : α -NH₂ gruplarının ortalama ayrılma sabiti

M_p : Protein miktarı (g)

h_{tot} : Toplam peptid bağları (meqv/g protein)=8.41mmol/g protein (Zhang ve ark., 2012).

3.2.4. Protein Miktarı Analizi

Kjeldahl yöntemi kullanılarak jelatin ve hidrolizatın protein oranı tespit edilmiştir. Kjeldahl tüplerine 1 g örnek koyularak üzerine 12 mL sülfürik asit (H₂SO₄) ve 1 adet Kjeldahl tableti eklenmiştir. Yakma ünitesinde yaklaşık 4 saat süreyle tüp içeriği berraklaşmaya kadar yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. İşlem sonrasında soğutulmuş

tüplere 75 mL saf su eklenmiş ve destilasyon aşamasına geçilmiştir. Destilasyon ünitesinden %33'lük NaOH çözeltisinden 75 mL tüplere otomatik olarak ekleme yapılmış ve ünitenin diğer ucuna %4 borik asit içeren 25 mL çözeltinin bulunduğu erlen yerleştirilmiştir. Destilasyon sonucunda yaklaşık 150 mL destilat toplanınca işlem tamamlanmış ve elde edilen destilat 0.1 N HCl ile titre edilmiştir. Aşağıdaki formül ile ham azot miktarı hesaplanmıştır. Elde edilen ham azot miktarı 5.4 çevrim faktörü kullanılarak toplam protein miktarı hesaplanmıştır (Yıldız, 2017).

$$\text{Toplam Azot (\%)} = [(A-B) * N * 0.014 / \text{Örnek miktarı (g)}] * 100 \quad (3.2)$$

A: Titrasyonda harcanan 0.1 N HCl (mL)

B: Şahit deneme için harcanan 0.1 N HCl (mL)

N: HCl'nin normalitesi (0.1 N)

3.2.5. Zeta Potansiyel Değerleri

Gökkuşığı alabalığı jelatin hidrolizatlarının %10'luk çözeltisi saf su ile hazırlanmıştır. Tam olarak çözünme için numuneler, 45 °C'de 30 dk. su banyosunda (Memmert WNB45, Schwabach, Almanya) bekletilmiştir. pH 3, 4.5, 6, 7.5 ve 9'a 1M HCl veya NaOH kullanılarak ayarlanmıştır. Solüsyonların zeta ölçümleri, Zetasizer Nano ZSP (Malvern, İngiltere) cihazı ile yapılmıştır. Zeta potansiyel değerleri, en az 15 ölçüm içeren 3 çalışmadan ortalama olarak elde edilmiştir.

3.2.6. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektroskopi Analizi

Gökkuşığı alabalığı jelatin hidrolizatlarının %10'luk çözeltisi saf su ile hazırlanmıştır. Homojenizasyonun tam olarak gerçekleşmesi için çözeltiler, 45 °C'de 30 dk. su banyosunda (Memmert WNB45, Schwabach, Germany) bekletilmiştir. Çözeltilerin ATR-FTIR spektrumları, 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 ölçüm yapılmış ve üç spektrumun ortalaması alınmıştır. Her ölçüm öncesi, kristal yüzeyi saf su ve %100 saf etil alkol ile temizlenmiştir (Cebi ve ark., 2016).

3.2.7. UV-vis absorpsiyon spektrumları

Alabalık jelatini ve hidrolizatlarının UV spektrumları bir UV-vis spektrofotometre (Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis, Amerika) kullanılarak

kaydedilmiştir. Numuneler damıtılmış suda çözündürülmüş (1 mg/mL) ve damıtılmış su referans olarak kullanılmıştır. Absorbans eğrisinin aralığı 190 ile 400 nm arasında olup çözünürlük 0.5 nm olarak kullanılmıştır (Xu ve ark., 2017).

3.2.8. Emülsiyon Aktivitesi ve Stabilitesi

Emülsiyon aktivite indeksi (EAI) ve stabilite indeksi (ESI) Zamorano-Apodaca ve ark. (2020)'nin belirttiği yöntemde hafif değişiklik yapılarak belirlenmiştir. Liyofilize haldeki jelatin çözeltisinden (%0,1 p/v) 10 mL alınmış ve üzerine 3 mL ayçiçek yağı eklenmiştir. Karışım, Ultra-turrax (Daihan HG-15D, Seoul, Korea) cihazı kullanılarak 18.000 xg'de 1 dk. süreyle homojenize edilmiştir. Homojenizasyondan sonra 0 ve 10. dakika sonunda emülsiyonun alt kısmından alınan 50 µL emülsiyon, %0,1 dodesil sülfat sodyum tuzu (SDS) ile 5 mL'ye seyreltilmiştir. Seyreltilmiş solüsyonların absorbansları spektrofotometre (Shimadzu UV-1800, Tokyo, Japonya) ile 500 nm dalga boyunda okunmuştur. EAI ve ESI değerlerinin hesaplanması için okunan absorbanslar (A_0 ve A_{10}), aşağıdaki eşitliklerde kullanılmıştır:

$$EAI (m^2/g) = (2 * 2,303 * A_0) / (C * \varphi) \quad (3.3)$$

A_0 = 500 nm dalga boyundaki absorbans

C = Protein başlangıç konsantrasyonu (g/mL)

φ = Emülsiyondaki yağ hacmi

$$ESI (dk.) = (A_0 * \Delta t) / \Delta A \quad (3.4)$$

A_{10} = 10 dk. sonundaki absorbans

Δt = 10 dk.

ΔA = $A_0 - A_{10}$

3.2.9. Köpük Kapasitesi ve Stabilitesi

Köpük kapasitesi ve köpük stabilitesi, Zamorano-Apodaca ve ark. (2020)'nin kullandığı yöntemde küçük değişiklik yapılarak belirlenmiştir. Liyofilize haldeki jelatin çözeltisinden (%0,5 p/v) 10 mL alınmış ve Ultra-turrax (Daihan HG-15D, Seoul, Kore) cihazı kullanılarak 14.000 xg'de oda sıcaklığında 30 sn. süreyle homojenize edilmiştir. Toplam köpük hacmi, homojenizasyon sonucunda 0 ve 10 dk. sonra ölçülmüştür. Köpük kapasitesi, 0. dakikada oluşan köpük genişmesini ifade ederken, köpük stabilitesi, 10. dakikada oluşan köpük genişmesini ifade etmektedir. Köpük genişmesi aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır:

$$\text{Köpük genleşmesi (\%)} = [(A - B) / B] * 100 \quad (3.5)$$

A: Farklı zamanlardaki hacim (mL)

B: Homojenizasyondan önceki hacim (mL)

3.2.10. Yağ Bağlama Kapasitesi

Jelatinlerin yağ bağlama kapasitesi, Karoud ve ark. (2019) tarafından belirtilen yöntemde değişiklik yapılarak belirlenmiştir. Darası alınmış santrifüj tüplerine 50 mg numune koyularak, tartılmıştır. Üzerine 1 mL ayçiçek yağı eklenerek oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. Karışımlar, vorteksle (Velp ZX3 Vortex Mixer, İtalya) her 15 dk.da 5 sn. karıştırılmıştır. Sonrasında 5000 rpm'de 20 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.

3.2.11. Renk Özelliklerinin Belirlenmesi

Gökkuşluğu alabalığı jelatin hidrolizatlarının renginin açıklık (L^*), kırmızılık (a^*) ve sarılık (b^*) değerleri, Kromametre (CR-100 Konica Minolta, Tokyo, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. L^* açıklığı (beyaz: 100, siyah: 0), a^* kırmızılığı (kırmızı: +, yeşil: -) ve b^* sarılığı (sarı: +, mavi: -) ölçer. Renk farklılıklarını (ΔE^*) hesaplamak için aşağıdaki denklem kullanılmıştır (Tekle ve ark., 2024):

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (3.6)$$

$$\text{Hue} = \tan^{-1} (b^*/a^*)$$

$$\text{Chroma} = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

Burada ΔL^* , Δa^* ve Δb^* , sırasıyla iki alabalık hidrolizatı arasındaki L^* , a^* ve b^* farklarıdır. Her numunenin beş kez L^* , a^* ve b^* değerleri ölçülmüştür.

3.2.12. DSC Analizi

Jelatin hidrolizatlarının termal özellikleri, DSC TA Enstrümanı Q100 (New Castle, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Yaklaşık 15 mg hidrolizat alüminyum tavalara yerleştirilmiş ve hava geçirmez şekilde kapatılmıştır. -50 ile 400 °C arasındaki ısıtma programı, 20 °C/dk hızında N₂ gazı altında uygulanmıştır. DSC ile birlikte verilen bilgisayar uygulaması ile termal termogram eğrileri oluşturulmuştur (Noman ve ark., 2020).

3.2.13. Antioksidan Analizi

Gökkuşığı alabalığı jelatin hidrolizatlarının DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi, Dara ve ark. (2020)'nin yönteminde küçük değişiklik yapılarak belirlenmiştir. Jelatin hidrolizatlarından farklı konsantrasyonlarda (15 mg/mL, 20 mg/mL, 25 mg/mL, 30 mg/mL) hazırlanmış solüsyonlardan 1.5 mL alınmış üzerine etanolle hazırlanmış 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 dk. süreyle karanlıkta bekletilmiştir. Kontrol numunelerinde solüsyon yerine saf su kullanılmıştır. Absorbans, spektrofotometreyle (Thermo Scientific GENESYS 10S UV-VIS, Amerika) 517 nm dalga boyunda okunmuştur. Düşük absorbans değeri, yüksek radikal süpürme aktivitesi gösterdiğini işaret etmektedir. DPPH radikal süpürme aktivitesi aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır:

$$\text{DPPH aktivitesi (\%)} = [1 - \text{Abs}_{\text{örnek}} / \text{Abs}_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (3.7)$$

3.2.14. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

İki farklı protein hidrolizatının antimikrobiyal aktivitesi, agar kuyusu difüzyon yöntemi kullanılarak *Escherichia coli* BC 1402, *Staphylococcus aureus* ATC 25923, *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella typhimurium* RSSK 95091 dahil olmak üzere patojenik bakterilere karşı değerlendirilmiştir. Hidrolizat süspansiyonları, üç farklı konsantrasyonda (1:2, 1:3 ve 1:5 mg/µL) distile su ile hazırlanmış ve 0.45 µm'lik bir filtreden geçirilerek sterilize edilmiştir. Gece boyunca patojenik kültürlerin OD600 değerleri 1.0'a ayarlanmış ve kültürler yaklaşık 35-40 °C'de TSA ortamına (Triptik Soya Agar, (Kazein pepton 15 g / L, Soya pepton 5 g / L, Sodyum klorür 5 g / L, Agar 15 g / L)) %1 oranında inoküle edilmiştir. Agar plakaları, patojenik kültürler içeren TSA besiyeri dökülerek hazırlanmıştır. Agarlar, kuyular oluşturmak için 2 No'lu bir mantar delici ile delinmiştir. Hazırlanan hidrolizat süspansiyonlarının 150 µL'si her bir oyuğa aşılanmış ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Protein hidrolizatının antimikrobiyal etkisi, inkübasyon sonunda oluşan bölgelerin ölçülmesiyle tespit edilmiştir.

3.2.15. İstatistiksel Analiz

Analizler, 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Sonuçlar, JMP Pro 18 (SAS, NC, USA) programı kullanılarak varyans (ANOVA) analizi ve Tukey testiyle değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

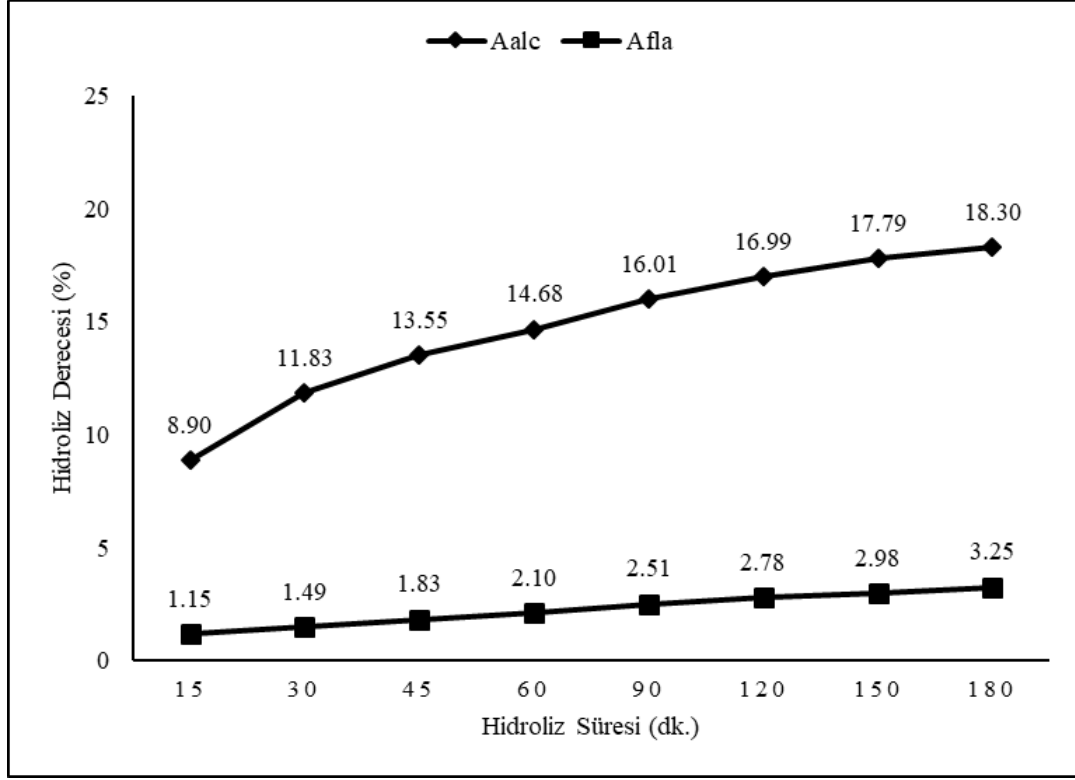
Bu bölümde, tez çalışmasında elde edilen bulgular ve literatür eşliğinde bulguların tartışması ayrıntılı biçimde yapılmıştır.

4.1. Hidroliz Derecesi (%)

HD, özellikle balık kaynaklarından protein hidrolizatlarının üretiminde kritik bir parametredir. HD, proteinin peptitlere ve serbest aminoasitlere parçalanma derecesini ölçerek besinsel ve işlevsel özelliklerin artırılmasını sağlar. Gökkuşığı alabalığı jelatin hidrolizatlarına ait HD, Şekil 4.1'de verilmiştir. Alcalase enzimiyle elde edilen hidrolizatların hidroliz derecesi %8.90-18.30 aralığında, flavourzyme ile elde edilen hidrolizatların hidroliz derecesi %1.15-3.25 aralığında değişmektedir. Tekle (2022) tarafından alabalık jelatininden flavourzyme kullanılarak üretilen hidrolizatlarda 60 dk. sonunda hidroliz derecesi %1.99 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise aynı süre sonunda %2.10 hidroliz derecesi ile yakın bir sonuç elde edilmiştir. Alcalase kullanılarak elde edilen Somon balığı deri jelatin hidrolizatlarında %14.3, somon balığı kafa hidrolizatlarında %11.5 - %17.3, somon balığı jelatin hidrolizatlarında %10 - %40 ve Gökkuşığı alabalığı iç organları hidrolizatında ise %20 hidroliz derecesi tespit edilmiştir (Babji ve ark., 2014; Gbogouri ve ark., 2004; Vásquez ve ark., 2022; Vázquez ve ark., 2021). Bu çalışmada elde edilen hidroliz dereceleri yukarıda belirtilen literatürle uyumludur. Enzim çeşitliliğinin hidroliz derecesi üzerinde önemli bir farklılık oluşturduğu görülmektedir. Yüksek hidroliz derecesi, alcalase enziminin daha yüksek proteolitik aktivite sergilediğini göstermektedir. Bununla beraber hidroliz süresi arttıkça hidroliz, daha fazla gerçekleşmektedir (Şekil 4.1).

4.2. Protein Miktarı

Gökkuşığı alabalığı jelatinlerinden alcalase enzimiyle elde edilen hidrolizatta %87.75, flavourzyme ile elde edilen de ise %99.25 protein oranı elde edilmiştir. Flavourzyme ile elde edilen hidrolizatlarda protein oranı daha yüksek bulunmuştur. Bu durum saflaştırma işleminin daha hassas bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir. Vásquez ve JosÃ (2018), balık hidrolizatları protein içeriğinin %68 ile %87.6 arasında değişebileceğini bildirmiştir. Her iki hidrolizat örneğinde de daha yüksek protein içeriği tespit edilmiştir. Bu durum hidrolizatların hammaddesi olan jelatinin yüksek protein içeriğine sahip olmasından kaynaklanmaktadır.

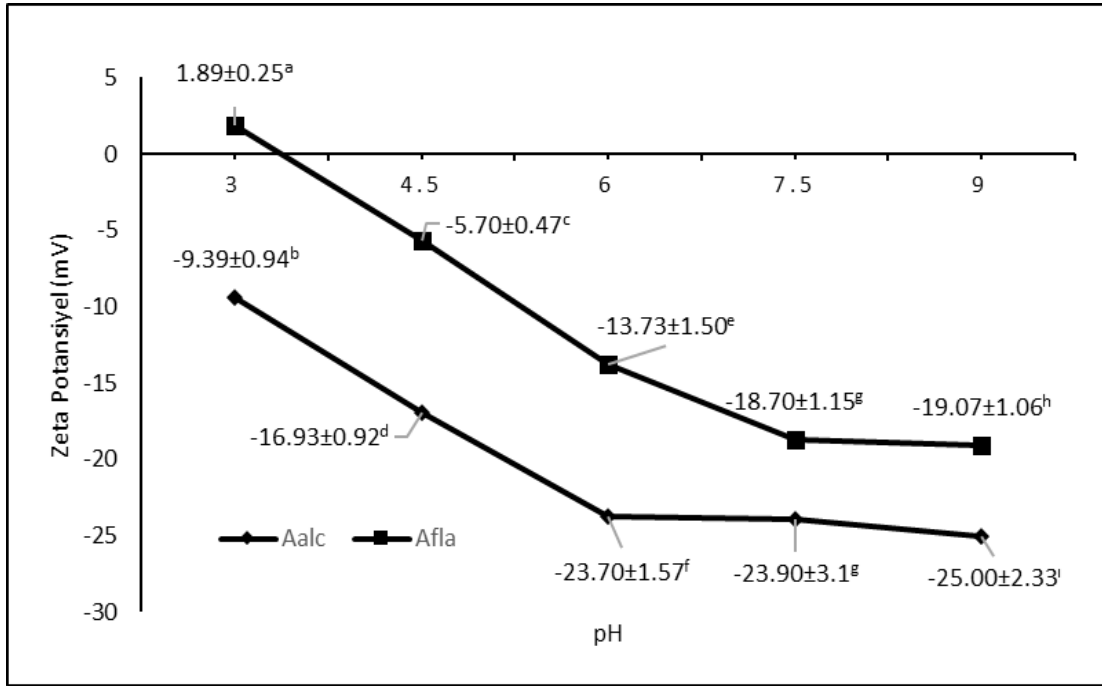


Şekil 4.1. Alabalık jelatin hidrolizatlarının hidroliz derecesi
Aalc: alabalık alcalase hidrolizat; Afla: alabalık flavourzyme hidrolizat

4.3. Zeta Potansiyel

Hidrolizatların zeta potansiyel değeri, negatif yüklerin yaygınlığını belirtmekte olup bir çözeltideki parçacıklar arasındaki elektrostatik etkileşimlerin bir göstergesi olarak işlev görmektedir. Jelatin hidrolizatlarının zeta potansiyel değerleri Şekil 4.2’de verilmiştir. Aalc’ın zeta potansiyel değerleri -9.39 ± 0.94 ile -25 ± 2.33 mV, Afla’nın ise 1.89 ± 0.25 ile -19.07 ± 1.06 mV aralığında tespit edilmiştir. Her iki hidrolizat numunesinde de en yüksek zeta potansiyel değerleri pH 9’da tespit edilmiştir. Her bir numune için pH farklılığının zeta potansiyel değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Ayrıca pH 7.5 hariç her bir pH değerinde Aalc hidrolizatlarının zeta değerleri, anlamlı olarak Afla hidrolizatlarından daha yüksektir ($p < 0.05$). Elde edilen zeta değerleri, istiridye hidrolizatı (Cha ve ark., 2018) değerleri ile uyumlu, levrek hidrolizatı (Tekle ve ark., 2022) değerlerinden ise daha yüksektir. Enzimatik hidroliz, amino asitlerin fonksiyonel gruplarına etki etmekte dolayısıyla yükün değişmesine neden olmaktadır. Bu durum enzim farklılığında da ortaya çıkmaktadır. Aalc hidrolizatlarının hem hidroliz derecesi hem de zeta potansiyel değerleri yüksek çıkmıştır (Şekil 4.1 ve 4.2). Bu durum, moleküler kütle dağılımı farklılığı nedeniyle anyonik ve katyonik grup sayısının etkilenmesinden kaynaklanabilir (Zheng ve ark., 2020). Ayrıca Afla’nın pH

3'teki zeta değeri hariç tüm değerlerin negatif olması parçacıkların moleküler kümeleşmeyi önlemek için ayrı kaldığını göstermektedir.

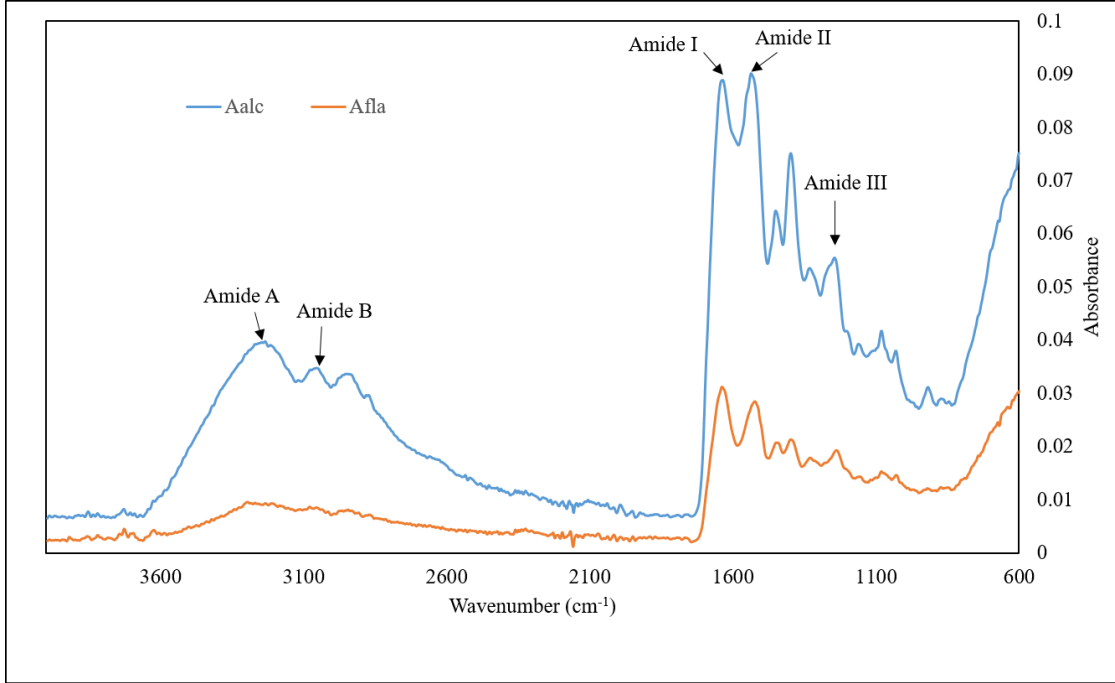


Şekil 4.2. Alabalık hidrolizatlarının zeta potansiyel değerleri
Aalc: alabalık alcalase hidrolizat; Afla: alabalık flavourzyme hidrolizat

4.4. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektroskopi Analizi

Gökkuşığı alabalığı jelatin hidrolizatlarının FTIR spektrumları ve amide I, II, III, A ve B bölgeleri Şekil 4.3'te verilmiştir. Amid I bandı genellikle C=O ve C-N gerilme titreşimlerinden kaynaklanmakta olup bu bölgedeki absorpsiyon, proteinlerin sekonder yapısını infrared spektroskopiyle tespitinde oldukça yararlıdır (Valcarcel ve ark., 2021). Amid I bandı Aalc için 1636.34 cm^{-1} Afla için 1638.24 cm^{-1} olarak tespit edilmiştir. Amide-II bantları, N-H gruplarının bükülme titreşimlerinden ve C-N gruplarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. Amid II bandı Aalc için 1536.49 cm^{-1} Afla için 1523.32 cm^{-1} olarak tespit edilmiştir. Amid-III, glisin omurgası, prolin yan zincirleri ve CH_2 gruplarından gelen titreşim gerilmelerinin yanı sıra, amid bağlantılarından kaynaklanan C-N gerilme titreşimleri ve N-H deformasyonu arasındaki kombinasyon piklerini temsil eder. Amid III bandı Aalc için 1244.49 cm^{-1} Afla için 1238.02 cm^{-1} olarak tespit edilmiştir. Amide B bandı NH_3^+ 'nin yanı sıra C-H'nin asimetric gerilme titreşimine bağlı olarak oluşmaktadır. Amid B bandı Aalc için 3055.03 cm^{-1} Afla için 3056.96 cm^{-1} olarak tespit edilmiştir. Amide A bandı hem Aalc hem de Afla için 3234.40 cm^{-1} olarak tespit edilmiş ve proteinlerin N-H bağlarının ve karbonhidratlar ile suyun O-H gruplarının gerilim modlarından kaynaklanır (Valcarcel ve ark., 2021). Tüm spektrum ve band

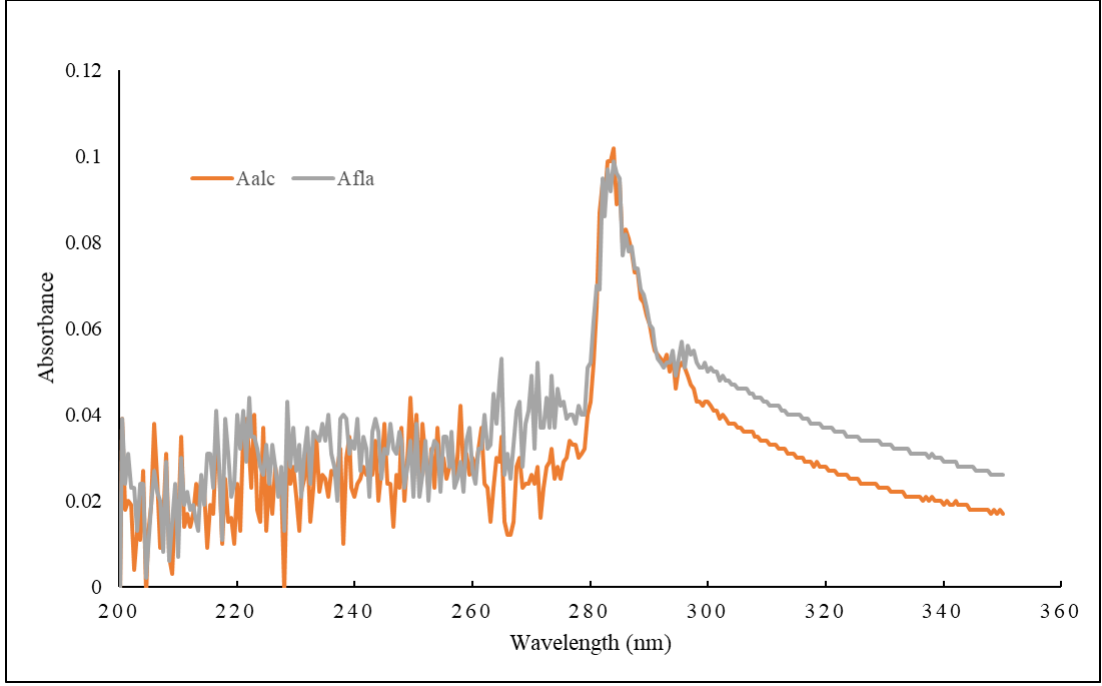
bölgelerinde (Amid A, B, I, II ve III) Aalc'nin daha yüksek absorpsiyon değerlerine sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.3). Bu sonuç, Aalc'nin daha yüksek bir hidroliz derecesine sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.3. Alabalık hidrolizatlarının FT-IR değerleri
Aalc: alabalık alcalase hidrolizat; Afla: alabalık flavourzyme hidrolizat

4.5. UV-Vis Karakterizasyonu

Gökkuşığı alabalığı jelatininin alcalase ve flavourzyme enzimiyle muamele edilmiş hidrolizatlarının ultraviyole absorpsiyon spektrumları benzerdir (Şekil 4.4) ve maksimum absorpsiyon pikleri Aalc ve Afla için 284 nm dalga boylarında görülmüştür. Proteinlerin yakın ultraviyole bölgesinde maksimum emilim dalga boyunun 280 nm olduğu bilinmektedir (Huang ve ark., 2011). Önceki araştırmalar, kolajenin triptofan içermeyip düşük miktarda tirozin ve fenilalanin içerdiğinden genellikle 280 nm'de UV ışığını düşük miktarda absorbe ettiğini göstermektedir (Duan ve ark., 2009). Ayrıca Tip I kolajenin yakın UV emilimi, tirozin içeriğini ve dolayısıyla sarmal olmayan telopeptidlerin bütünlüğünü ölçmek için kullanılabilir (Na, 1988). Dolayısıyla kolajenin hidrolize formu olan jelatin hidrolizatlarında 284 nm dalga boyunda elde edilen pikler, proteinin jelatin olduğunu ve saflaştırmanın etkin bir şekilde gerçekleştiğini teyit etmektedir. Ayrıca enzim farklılığının absorpsiyonda önemli bir farklılık oluşturmadığı görülmektedir.



Şekil 4.4. Alabalık jelatini ve hidrolizatlarının UV-VIS karakterizasyonu
Aalc: alabalık alcalase hidrolizat; Afla: alabalık flavourzyme hidrolizat

4.6. Emülsiyon Aktivitesi ve Stabilitesi

Gökkuşuğu alabalığı jelatin hidrolizatlarının emülsiyon aktivite indeksi (EAI) ve emülsiyon stabilite indeksi (ESI) Tablo 4.1'de verilmiştir. EAI'da Afla daha yüksek bir aktivite gösterirken ESI'da Aalc daha yüksek bir stabilite göstermiştir ($p < 0.05$). Daha yüksek yüzey hidrofobikliği özelliklerinden dolayı yüksek molekül ağırlığına sahip peptit miktarının fazla olması daha iyi emülsiyon özelliklerinin oluşması sağlamaktadır. Bu kapsamda ortalama peptit zincir uzunluğu (PZU) gösterge olarak değerlendirilebilir (PZU: 100/%HD (Adler-Nissen, 1986)). Bu çalışmada, AFL (PZU: 30.76), ALC'ye (PZU: 5.46) kıyasla belirgin şekilde daha yüksek emülsiyon aktivitesi sergilemiştir. Bu farklılık, moleküler yapısal özelliklerle açıklanabilir: Kısa zincirli peptitler kararlı olmalarına ve arayüzde hızlı adsorpsiyon göstermelerine rağmen, yetersiz amfifilik özellikleri nedeniyle arayüz gerilimini etkili bir şekilde düşürememektedir. Buna karşılık, daha yüksek moleküler ağırlıklı polipeptitler, arayüzde konformasyonel yeniden yönelme yetenekleri sayesinde emülsiyon stabilizasyonunda daha etkili rol oynamaktadır. (Vásquez ve ark., 2022).

4.7. Köpük Kapasitesi ve Stabilitesi

Balık jelatini hidrolizatlarının köpük kapasitesi, özellikle fırıncılık uygulamaları bağlamında çeşitli gıda ürünlerinin kalitesini artırabilen önemli bir işlevsel özelliktir.

Gökkuşığı alabalığı jelatin hidrolizatlarının köpük oluşturma kapasitesi (KOK) ve köpük stabilitesi (KS) Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Alabalık jelatin hidrolizatlarının teknolojik özellikleri

Özellikler	Aalc	Afla
EAI (m ² /g)	14.83±0.38 ^a	30.39±1.85 ^b
ESI (dk)	107.69±3.54 ^c	24.20±2.71 ^d
KOK (%)	14.72±1.68 ^e	11.48±2.03 ^e
KS(%)	5.18±1.32 ^f	4.69±0.51 ^f
Yağ Bağlama (mL/g)	0.79±0.02 ^g	1.30±0.07 ^h
L*	85.27±0.049 ⁱ	83.37±0.03 ⁱ
a*	0.55±0.07 ^j	2.17±0.04 ^k
b*	30.41±0.22 ^l	35.56±0.20 ^m
Chroma	30.42±0.22 ⁿ	35.62±0.20 ^o
Hue	88.94±0.13 ^p	86.5±0.08 ^r
ΔE	5.71±0.35	

Veriler, üç ölçümün ortalama ± standart sapması olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki farklı harflere sahip ortalamalar, istatistiksel olarak anlamlı etkinin olduğunu ($p < 0.05$), aynı harfler ise istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını göstermektedir ($p > 0.05$). Aalc: alabalık alcalase hidrolizat; Afla: alabalık flavourzyme hidrolizat, EAI: Emülsiyon aktivite indeksi, ESI: Emülsiyon stabilite indeksi, KOK: Köpük oluşturma kapasitesi, KS: Köpük stabilitesi

Köpük oluşturma kapasitesinde %14.72±1.68 stabilitesinde ise %5.18±1.32 en yüksek değerler olarak tespit edilmiştir. Enzim farklılığının hem köpük kapasitesi hem de stabilitesinde anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$). Hidroliz derecesi, moleküler ağırlık ve amino asit kompozisyonu gibi çeşitli faktörlerin hidrolizatların köpük özelliklerini etkilediği özellikle hidrofobik amino asitlerin çok olmasının olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir (Blanco ve ark., 2017). Kalamar ve dil balığı jelatin hidrolizatlarının köpük kapasitesinin tespit edildiği bir çalışmada %0.5 konsantrasyonda sırasıyla %6 ve %7 köpük kapasitesi belirlenmiştir (Giménez ve ark., 2009). Bu çalışmada her iki enzim türünde elde edilen sonuçlar daha yüksektir. Köpük stabilitesinin düşük olması enzimatik hidroliz sonucu oluşan düşük molekül ağırlık peptitlerin hava hücrelerini uzun süreli stabilize edememesi nedeniyle güçlü film oluşturulamamasından kaynaklı olabilir (Halim ve ark., 2016).

4.8. Yağ Bağlama Kapasitesi

Yağ bağlama kapasitesi, gıda endüstrisinde, özellikle de proteinler ve lipitler arasındaki etkileşimin doku, tat ve genel kalite açısından önemli olduğu çeşitli gıda ürünlerinin formülasyonunda kritik bir özelliktir. Gökkuşığı alabalığı jelatin hidrolizatlarının yağ bağlama kapasitesi Tablo 4.1'de verilmiştir. Düşük HD'ye sahip Afla'nın yağ bağlama kapasitesi (1.30±0,24 mL/g), yüksek HD'ye sahip Aalc'den

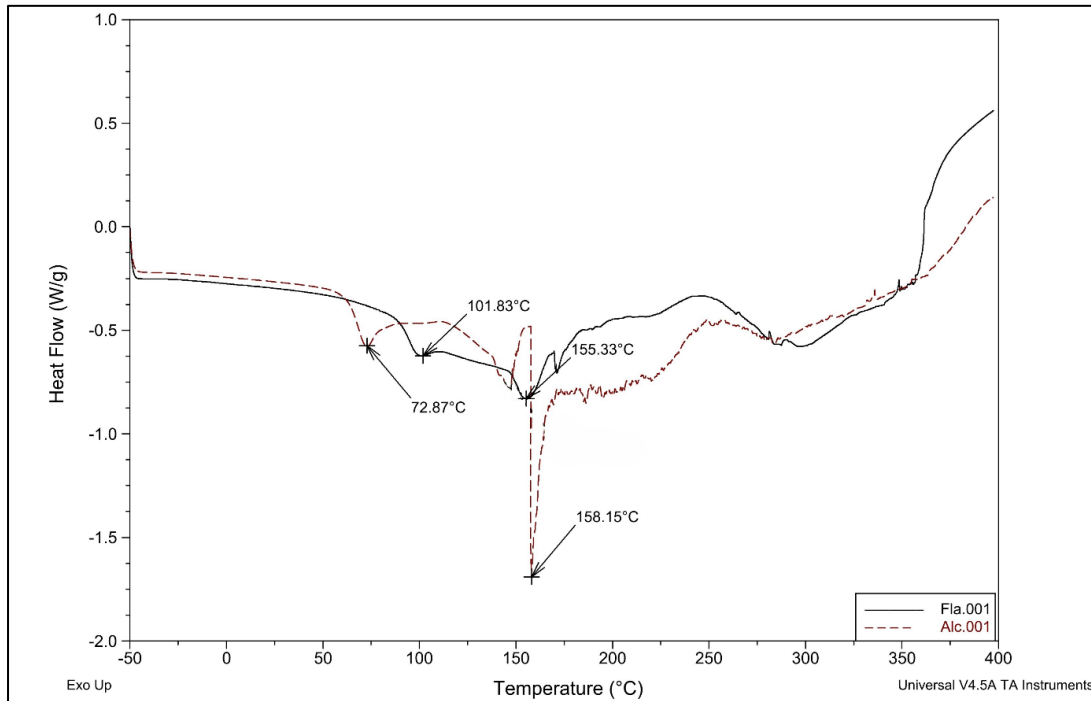
(0.79±0,02 mL/g) daha yüksektir ($p<0.05$). Molekül ağırlığının düşmesine neden olan yüksek hidroliz derecesi, daha az yağ emilimi nedeniyle yağ bağlama kapasitesinin düşmesine sebep olur (Honrado ve ark., 2024). Ayrıca aşırı hidrolizin, protein yapısının bütünlüğünü tehlikeye attığı ve yağı hapsetmek için oluşturulan protein ağının bozulmasına neden olduğu belirtilmiştir (He ve ark., 2013). Tekle ve ark. (2024) tarafından yapılan bir çalışmada, çipura jelatininden savinase ile muamele edilen hidrolizatlar, alcalase ile muamele edilenlere göre yaklaşık iki kat daha yüksek bir yağ bağlama kapasitesi göstermiştir. Bu, enzim seçiminin, jelatinin fonksiyonel özelliklerini optimize etmede çok önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar da bu durumu teyit etmektedir (Tablo 4.1). Birçok türün balık proteini hidrolizatlarının, soya proteini tozu ve kazein tozu gibi ticari gıda sınıfı yağ bağlayıcılarla karşılaştırıldığında üstün bir yağ bağlama kapasitesine sahip olduğu bulunmuştur (He ve ark., 2013).

4.9. Renk Özellikleri

Gökkuşuğu alabalığı jelatin hidrolizatlarının renk özellikleri, gıda ve ilaç da dahil olmak üzere çeşitli endüstrilerdeki kalitelerini ve potansiyel uygulamalarını değerlendirmek için kritik öneme sahiptir. Deri ve pullar gibi çeşitli balık kaynaklarından elde edilen balık jelatin hidrolizatları genellikle farklı renk özellikleri sergilemekte olduğu bilinmektedir. Örneğin, araştırmalar, balık derilerinden elde edilen jelatin hidrolizatlarının, belirli işleme koşullarına ve kullanılan balık türüne bağlı olarak açık sarıdan kahverengimsi sarıya kadar değişebileceğini göstermektedir. Alabalık hidrolizatlarının renk analizi değerleri, Tablo 4.1’de verilmiştir. Açıklık (L^*), kırmızılık (a^*), sarılık (b^*), Chroma (doygunluk) ve Hue (ton açısı) değerlerinde enzim farklılığının anlamlı bir fark oluşturduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Aalc’nin L^* ve Hue (ton açısı) değerleri, Afla’nın ise a^* , b^* , ve Chroma (doygunluk) değerleri daha yüksek bulunmuştur. Örneklerin ΔE 'si sırasıyla 3'ten büyük, 1.5 ile 3 arasında ve 1.5'ten küçük ise renk farklılıkları çok belirgin, belirgin ve küçük farklılıklar olarak değerlendirilir (Tekle ve ark., 2024). Çalışmamızda elde edilen hidrolizatlar arasında renk farklılığı, belirgin olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1). Hidrolizat renklerinin lipit oksidasyonu, pigment degradasyonu ve esmerleşme reaksiyonlarından etkilendiği belirtilmiştir (Sarabandi ve ark., 2022).

4.10. DSC

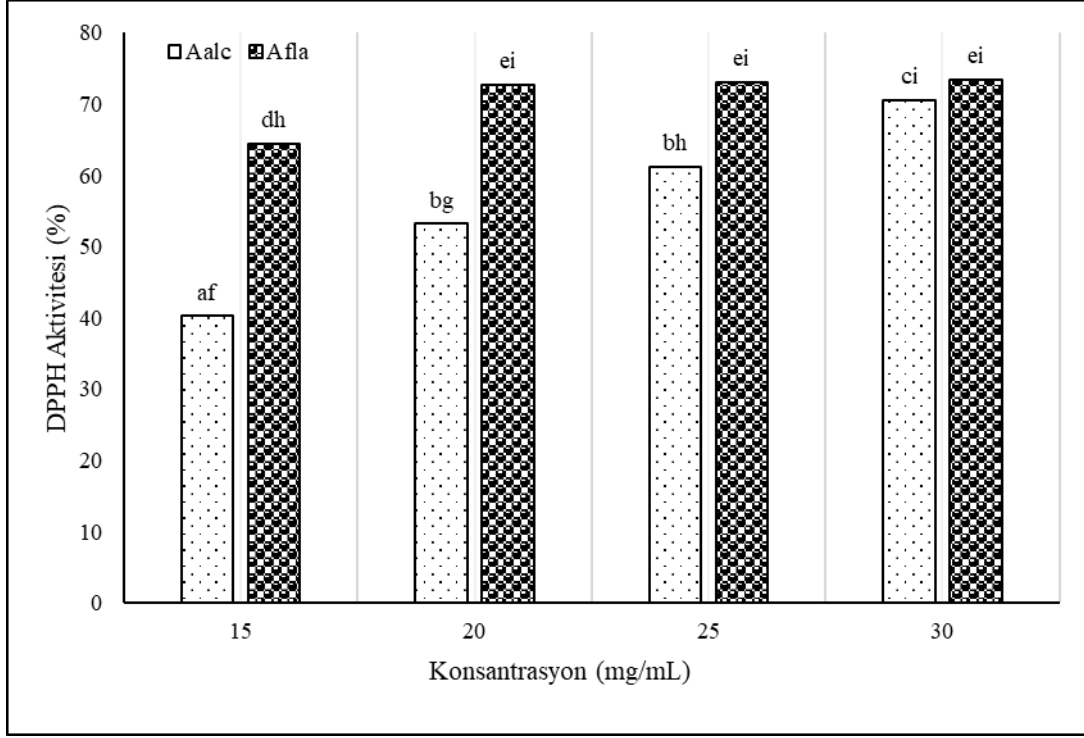
DSC analizi, bir malzemenin fiziksel ve kimyasal özelliklerindeki sıcaklık veya zamana bağlı değişikliklerden kaynaklanan entalpi değişikliklerini belirlemek için kullanılmaktadır (Noman ve ark., 2020). Jelatin hidrolizat numunelerinin, alkalase ve flavourzyme enzimlerinin termal termogramları Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Alkalase ve flavourzyme hidrolizatları için, camsı bir durumdan kauçuksu bir duruma geçişi tanımlayan T_g, sırasıyla 72.87 ve 101.83 °C olarak belirlenmiştir. T_g esas olarak jel polimerinin hareketlilik seviyesindeki değişiklikten etkilenmektedir (Shabanpour ve ark., 2018). Bununla birlikte, alkalase ve flavourzyme hidrolizatları için sırasıyla 158.15 ve 155.33 °C'de endotermik zirveler gözlenmiştir. Bu tepe noktaları aynı zamanda hidrolizat numunelerinin T_m değerlerini de temsil eder. Düşük sıcaklıklarda erimenin zengin α-amino asitlerin varlığı ile ilişkili olduğu ve yüksek sıcaklıklarda erimenin zengin imino asitlerin varlığı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Masilan ve ark., 2022). Vázquez ve ark. (2021) alkalase enzimi ile çiftlik somonu derisi yan ürünlerinden elde edilen jelatin hidrolizat için 87 °C'lik bir T_g bildirmiştir. Başka bir çalışmada Çin mersin balığından alkalase enzimi ile elde edilen protein hidrolizatı için T_g ve T_m değerleri sırasıyla 57.67 ve 149.58 olarak hesaplanmıştır (Noman ve ark., 2020).



Şekil 4.5. Alkalase ve flavourzyme jelatin hidrolizatının DSC analizi
Alc: alabalık alkalase hidrolizat; Fla: alabalık flavourzyme hidrolizat

4.11. Antioksidan Analizi

DPPH, 517 nm'de güçlü bir emilim bandı veren kararlı bir radikaldir. DPPH radikalleri antioksidan gibi proton veren bir substratla karşılaştığında, radikaller temizlenir ve emilim azalır (Ramezanzade ve ark., 2018). Gökkuşığı alabalığı jelatin hidrolizatlarının DPPH radikal temizleme aktivitesi Şekil 4.6'da verilmiştir. DPPH radikal temizleme aktivitesi Aalc için 40.22 ± 3.66 – 70.53 ± 0.20 , Afla için ise 64.37 ± 0.21 - 73.41 ± 0.27 aralığında tespit edilmiştir. En yüksek DPPH radikal temizleme aktivitesi Afla'nın 30 mg/mL konsantrasyonda bulunurken en düşük aktivite Aalc'nin 15 mg/mL konsantrasyonunda elde edilmiştir. Her iki hidrolizat numunesinde konsantrasyon arttıkça inhibisyon yüzdesi artsa da bu artış önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$, Şekil 5). Afla'nın hidroliz derecesi daha düşük olmasına rağmen tüm konsantrasyonlarda DPPH radikal temizleme aktivitesinin Aalc'ye göre daha yüksek olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Bu durumun flavourzymın spesifikliğiyle alakalı bir durum olduğu tahmin edilmektedir. Benzer bir sonuç somon balığı yan ürünlerinden (göğüs yüzgeci) elde edilen hidrolizatların DPPH radikal temizleme aktivitesinde elde edilmiştir. Çalışmada 5 mg/mL konsantrasyonda flavourzyme hidrolizatları (%62.9), alcalase hidrolizatlarından (%51.95) daha yüksek DPPH radikal temizleme aktivitesi sergilemiştir (Ahn ve ark., 2012). Yine Tekle ve ark. (2022) tarafından flavourzyme enzimiyle elde edilen alabalık jelatin fraksiyonlarının (≤ 5 kDa, 5-10 kDa, ≥ 10 kDa) DPPH radikal temizleme aktivitesinin tespit edildiği çalışmada 20 mg/mL konsantrasyonda en yüksek inhibisyon, %60.07 ile ≤ 5 kDa'nun altındaki peptit fraksiyonlarında tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar daha yüksek DPPH radikal temizleme aktivitesine sahiptir (Şekil 4.6). Başka bir çalışmada Gökkuşığı alabalığı derisinden alcalase ile elde edilen jelatin hidrolizatları ve peptit fraksiyonlarının (30, 10 ve 3 kDa) DPPH radikal temizleme aktivitesi çalışılmıştır. Çalışmada %7.44-67.77 aralığında DPPH radikal temizleme aktivitesi elde edilmiş, en yüksek aktivite >30 kDa peptit fraksiyonlarında görülmüş ve antioksidan aktivitenin konsantrasyonla pozitif bir korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (Ramezanzade ve ark., 2018). Ayrıca antioksidan aktivite için peptit boyutunun kritik olduğu ve orta büyüklükteki peptitlerin önemli bir rol oynayabileceği belirtilmiştir. Bununla beraber substrat, proteaz tipi, hidroliz koşulları, peptit bileşimi, peptitlerin moleküler boyutu ve dizilimi gibi bazı faktörlerin de radikal temizleme aktivitesini etkileyebileceği öne sürülmüştür (Cheung ve ark., 2012).



Şekil 4.6. Alabalık jelatin hidrolizatlarının DPPH radikal temizleme aktivitesi

Farklı harfler numuneler arasındaki önemli istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). İlk harfler her bir enzim farklı konsantrasyonları arasındaki, sonraki harfler ise tüm konsantrasyonlar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir. Aalc: alabalık alcalase hidrolizat; Afla: alabalık flavourzyme hidrolizat

4.12. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

İki farklı enzim (Alcalase ve Flavourzyme) kullanılarak elde edilen alabalık protein hidrolizatlarının Gram pozitif (*S. aureus* ve *L. monocytogenes*) ve Gram negatif (*E. coli* ve *Salmonella*) bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir. Üç farklı konsantrasyonda (1:2, 1:3 ve 1:5, mg/ μ L) hazırlanan hidrolizatların test edilen bakterilerde inhibisyon oluşturmadığı tespit edilmiştir. Gram negatif bakteriler, hücre duvarındaki dış lipopolisakkarit tabakası nedeniyle genellikle antimikrobiyal ajanlara karşı Gram pozitiflerden daha dirençlidir. Ancak bu çalışmada hidrolizatların her iki bakteri grubuna karşı da etkisiz kaldığı gözlemlenmiştir. Gram negatif bakteriler tipik olarak gram pozitiflere göre antimikrobiyal ajanlara karşı daha dirençlidir. Bununla birlikte, bu çalışmada test edilen protein hidrolizatlarının hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı etkisiz olduğu bulunmuştur. Jemil ve ark. (2014) fermente sardalya, zebra blenny, kaya balığı ve vatoz balığı etinden elde edilen protein hidrolizatlarının antimikrobiyal aktivitesini araştırmıştır. Dört protein hidrolizatının *B. cereus* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, sardalya protein hidrolizatının *S. aureus*, *E. faecalis* ve *M. luteus*'a karşı antimikrobiyal aktivite sergilediği, vatoz balığı proteini hidrolizatının ise *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bu nedenle, protein hidrolizatının

antimikrobiyal aktivitesi, farklı hidrolizat kaynağı ile ilişkilendirilebilir. Da Rocha ve ark. (2018) tarafından Arjantin uskumru balıklarından Alcalase ve Protamex enzimleri ile elde edilen protein hidrolizatının bazı bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi araştırılmış ve hidrolizatların *A. hydrophila*, *L. monocytogenes* ve *Y. enterocolitica*'ya karşı daha az antimikrobiyal aktivite sergilediğini belirtmiştir. Öte yandan, antimikrobiyal etkinin hidrolizatın konsantrasyonuna ve üretiminde kullanılan enzime bağlı olduğu vurgulanmıştır. Ruthu ve ark. (2014) farklı bakterilerle fermente edilen tatlı su balığı kafası atıklarından elde edilen protein hidrolizatlarının patojen mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkileri olduğunu bildirmiştir. De Quadros ve ark. (2019) *Colossoma macropomum* balığından türetilen bir protein hidrolizatının (Protamex enzimi ile) *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivitesini bildirmiştir. Protein hidrolizatı sadece *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bununla birlikte, ne protein hidrolizatının ne de farklı fraksiyonların ($1 < kDa$ ve $1 > kDa$), *E. coli*'ye karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir. Protamex enzimi kullanılarak sarı yüzgeçli orkinostan türetilen protein hidrolizatının farklı fraksiyonları (< 30 kDa, 10-30 kDa, 3-10 kDa ve < 3 kDa), test edilen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve < 3 kDa fraksiyonunun en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi sergilediği bulunmuştur (Pezeshk ve ark., 2019). Son olarak, protein hidrolizatlarının antimikrobiyal aktivitesi, hidrolizatın amino asit bileşimi veya dizisi, hidrolizat kaynağı ve hazırlanmasında kullanılan enzim ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde iklim değışikliği ve küresel ısınma gibi nedenlerden dolayı doğal kaynaklarda azalma potansiyeli bulunmaktadır. Bu nedenle atıkların geri dönüşümü daha da önemli hale gelmiştir. Bu çalışmada Gökkuşuğı alabalığının atık deri jelatinlerinden enzimatik hidrolizle protein hidrolizatları üretilmiştir. Elde edilen hidrolizatların emülsiyon, köpük oluşturma, yağ ve su bağlama özelliklerinin gıda sanayinde kullanılma fırsatı sunabileceği belirlenmiştir. Bununla beraber hidrolizatların antioksidan özellik göstermesi nedeniyle biyokatif bileşen olarak da kullanılabilirdiği düşünölmektedir. Özellikle enzim farklılığının üretilen hidrolizatların hem teknolojik hem de biyoaktif özellikleri üzerinde önemli farklılığa neden olduğu tespit edilmiştir. Sonraki bilimsel çalışmalarda elde edilen hidrolizatların gıda ürün denemelerinin yapılması ve biyoaktif özellikli peptitlerin saflaştırılması noktasında çalışmaların yapılması atıkların katma değeri ürünler'e dönüştürölmesine önemli katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Adler-Nissen, J. (1986). Enzymic hydrolysis of food proteins.
- Ahn, C.-B., Je, J.-Y., & Cho, Y.-S. (2012, 2012/11/01/). Antioxidant and anti-inflammatory peptide fraction from salmon byproduct protein hydrolysates by peptic hydrolysis. *Food Research International*, 49(1), 92-98. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.002>
- Alemán, A., Giménez, B., Pérez-Santin, E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2011, 2011/03/15/). Contribution of Leu and Hyp residues to antioxidant and ACE-inhibitory activities of peptide sequences isolated from squid gelatin hydrolysate. *Food Chemistry*, 125(2), 334-341. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.058>
- Babji, A. S., Daud, N. A., & Cheng, P. Y. (2014). Functional Properties of Gelatin Hydrolysate from Salmon Skin (*Salmo salar*). *Journal of Nutritional Therapeutics*, 3(2), 87-94.
- Barcellos, C. C. C., Bassil, P. E., Duarte, M. C. K. H., Franco, R. M., Keller, L. A. M., & MESQUITA, E. d. F. M. d. (2020). The effect of the commercial fish gelatin protein hydrolysate on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet quality. *Food Science and Technology*, 40, 929-937.
- Blanco, M., Vazquez, J. A., Perez-Martin, R. I., & Sotelo, C. G. (2017, May). Hydrolysates of Fish Skin Collagen: An Opportunity for Valorizing Fish Industry Byproducts. *Marine Drugs*, 15(5). <https://doi.org/10.3390/md15050131>
- Boran, G., & Regenstein, J. M. (2010). Chapter 5 - Fish Gelatin. In S. L. Taylor (Ed.), *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 60, pp. 119-143). Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(10\)60005-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1043-4526(10)60005-8)
- Cebi, N., Durak, M. Z., Toker, O. S., Sagdic, O., & Arici, M. (2016, 2016/01/01/). 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>
- Cha, Y., Wu, F., Zou, H., Shi, X., Zhao, Y., Bao, J., Du, M., & Yu, C. (2018). High-Pressure Homogenization Pre-Treatment Improved Functional Properties of Oyster Protein Isolate Hydrolysates. *Molecules*, 23(12), 3344. <https://www.mdpi.com/1420-3049/23/12/3344>
- Cheng-cheng, W., Hui, J., Hai-tao, W. U., Cui-ping, Y. U., & Yue, T. (2017). Antioxidant activity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin hydrolysates and its simulated digestive products. *Science and Technology of Food Industry*(24), 20-26. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.24.005>
- Cheung, I. W. Y., Cheung, L. K. Y., Tan, N. Y., & Li-Chan, E. C. Y. (2012, 2012/10/01/). The role of molecular size in antioxidant activity of peptide fractions from Pacific hake (*Merluccius productus*) hydrolysates. *Food Chemistry*, 134(3), 1297-1306. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.215>

- Da Rocha, M., Alemán, A., Baccan, G. C., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, 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. [https://doi.org/https://doi.org/10.22034/IAR\(20\).2020.1892203.1006](https://doi.org/https://doi.org/10.22034/IAR(20).2020.1892203.1006)
- De Quadros, C. D. C., Lima, K. O., Bueno, C. H. L., Fogaça, F. H. d. S., Da Rocha, M., & Prentice, C. (2019). Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activity of protein hydrolysates and peptide fractions derived from *Collossoma macropomum* and their effect on ground beef lipid oxidation. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 28(6), 677-688.
- Duan, R., Zhang, J., Du, X., Yao, X., & Konno, K. (2009, 2009/02/01/). Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*). *Food Chemistry*, 112(3), 702-706. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.020>
- Gbogouri, G. A., 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. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09909.x>
- Giménez, B., Alemán, A., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2009, 2009/06/01/). Antioxidant and functional properties of gelatin hydrolysates obtained from skin of sole and squid. *Food Chemistry*, 114(3), 976-983. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.050>
- Halim, N. R. A., Yusof, H. M., & Sarbon, N. M. (2016, 2016/05/01/). Functional and bioactive properties of fish protein hydrolysates and peptides: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 51, 24-33. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.02.007>
- Haug, I., & Draget, K. (2011). Gelatin. In *Handbook of Food Proteins* (pp. 92–115).
- He, S., Franco, C., & Zhang, W. (2013, 2013/01/01/). Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). *Food Research International*, 50(1), 289-297. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.031>
- 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. <https://www.mdpi.com/2304-8158/13/19/3120>
- Huang, Y.-R., Shiao, C.-Y., Chen, H.-H., & Huang, B.-C. (2011, 2011/08/01/). Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilized collagens from the skin of balloon fish (*Diodon holocanthus*). *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1507-1513. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.011>
- Jemil, I., Jridi, M., Nasri, R., Ktari, N., Salem, R. B. S.-B., Mehiri, M., Hajji, M., & Nasri, M. (2014). Functional, antioxidant and antibacterial properties of protein

hydrolysates prepared from fish meat fermented by *Bacillus subtilis* A26. *Process Biochemistry*, 49(6), 963-972.

- Karoud, W., Sila, A., Krichen, F., Martinez-Alvarez, O., & Bougatef, A. (2019, 2019/02/01). Characterization, Surface Properties and Biological Activities of Protein Hydrolysates Obtained from Hake (*Merluccius merluccius*) Heads. *Waste and Biomass Valorization*, 10(2), 287-297. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s12649-017-0069-9>
- Masilan, K., Neethiselvan, N., Shakila, R. J., Muralidharan, N., Karthy, A., Ravikumar, T., & Parthiban, F. (2022, 2022/11/01/). Investigation on the coacervation of fish scale gelatin hydrogel with seafood waste hydrolysates for the development of artificial fish bait: Physico-chemical, thermodynamic, and morpho-structural properties. *Journal of the Indian Chemical Society*, 99(11), 100783. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jics.2022.100783>
- Mirzapour-Kouhdasht, A., Moosavi-Nasab, M., Kim, Y. M., & Eun, J. B. (2021, Apr 16). Antioxidant mechanism, antibacterial activity, and functional characterization of peptide fractions obtained from barred mackerel gelatin with a focus on application in carbonated beverages. *Food Chemistry*, 342. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128339>
- Mirzapour-Kouhdasht, A., Moosavi-Nasab, M., Lee, C. W., Yun, H., & Eun, J.-B. (2021, 2021/04/01). Structure–function engineering of novel fish gelatin-derived multifunctional peptides using high-resolution peptidomics and bioinformatics. *Scientific Reports*, 11(1), 7401. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86808-9>
- Na, G. C. (1988, 1988/07/01/). UV Spectroscopic Characterization of Type I Collagen. *Collagen and Related Research*, 8(4), 315-330. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0174-173X\(88\)80003-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0174-173X(88)80003-7)
- Noman, A., Ali, A. H., AL-Bukhaiti, W. Q., Mahdi, A. A., & Xia, W. (2020). Structural and physicochemical characteristics of lyophilized Chinese sturgeon protein hydrolysates prepared by using two different enzymes. *Journal of Food Science*, 85(10), 3313-3322. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1750-3841.15345>
- Nurilmala, M., Hizbullah, H. H., Karnia, E., Kusumaningtyas, E., & Ochiai, Y. (2020, Jan 31). Characterization and Antioxidant Activity of Collagen, Gelatin, and the Derived Peptides from Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) Skin. *Mar Drugs*, 18(2). <https://doi.org/10.3390/md18020098>
- Ozcan, Y., Kurt, A., Ozmen, D., & Toker, O. S. (2023). Gelatin production from turkey (*Meleagris gallopavo*) skin as a new source: from waste to a sustainable food gelling agent. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(11), 5511-5520.
- Özgen, S. B. (2024). *Balık unundan protein hidrolizatı eldesi, biyoaktif ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi* [Doktora Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi].
- Pezeshk, S., Ojagh, S. M., Rezaei, M., & Shabanpour, B. (2019). Fractionation of protein hydrolysates of fish waste using membrane ultrafiltration: investigation of antibacterial and antioxidant activities. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11, 1015-1022.

- Ramezanzade, L., Hosseini, S. F., Nikkhah, M., & Arab-Tehrany, E. (2018). Recovery of Bioactive Peptide Fractions from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Processing Waste Hydrolysate. *ECOPERSIA*, 6(1), 31-40. <http://ecopersia.modares.ac.ir/article-24-17233-en.html>
- Ranasinghe, R. A. S. N., Wijesekara, W. L. I., Perera, P. R. D., Senanayake, S. A., Pathmalal, M. M., & Marapana, R. A. U. J. (2022, 2022/05/19). Functional and Bioactive Properties of Gelatin Extracted from Aquatic Bioresources – A Review. *Food Reviews International*, 38(4), 812-855. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1747486>
- Ruan, Q., Chen, W., Lv, M., Zhang, R., Luo, X., Yu, E., Pan, C., & Ma, H. (2023). Influences of Trypsin Pretreatment on the Structures, Composition, and Functional Characteristics of Skin Gelatin of Tilapia, Grass Carp, and Sea Perch. *Marine Drugs*, 21(8), 423. <https://www.mdpi.com/1660-3397/21/8/423>
- Ruthu, Murthy, P. S., Rai, A. K., & Bhaskar, N. (2014). Fermentative recovery of lipids and proteins from freshwater fish head waste with reference to antimicrobial and antioxidant properties of protein hydrolysate. *Journal of food science and technology*, 51, 1884-1892.
- Sarabandi, K., Tamjidi, F., Akbarbaglu, Z., Samborska, K., Gharehbeiglou, P., Kharazmi, M. S., & Jafari, S. M. (2022). Modification of Whey Proteins by Sonication and Hydrolysis for the Emulsification and Spray Drying Encapsulation of Grape Seed Oil. *Pharmaceutics*, 14(11), 2434. <https://www.mdpi.com/1999-4923/14/11/2434>
- Shabanpour, B., Kazemi, M., Ojagh, S. M., & Pourashouri, P. (2018, 2018/10/01/). Bacterial cellulose nanofibers as reinforce in edible fish myofibrillar protein nanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 742-751. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.038>
- Shiao, W.-C., Wu, T.-C., Kuo, C.-H., Tsai, Y.-H., Tsai, M.-L., Hong, Y.-H., & Huang, C.-Y. (2021). Physicochemical and Antioxidant Properties of Gelatin and Gelatin Hydrolysates Obtained from Extrusion-Pretreated Fish (*Oreochromis* sp.) Scales. *Marine Drugs*, 19(5), 275. <https://www.mdpi.com/1660-3397/19/5/275>
- Tabarestani, H. S., Shahram, H., Mahoonak, A. S., Moayedi, A., & Kaveh, S. (2024, 2024/11/15/). Enzymatic Hydrolysis of White-Cheek Shark Skin Gelatin: Optimization, Structural Transformations, Functional Characteristics, and Antioxidant Potential. *LWT*, 117060. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.117060>
- Tekle, S., Bozkurt, F., Akman, P. K., & Sagdic, O. (2022). Bioactive and Functional properties of gelatin peptide fractions obtained from sea bass (*Dicentrarchus labrax*) skin. *Food Science and Technology*, 42. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/fst.60221>
- Tekle, S., Ozulku, G., Bekiroglu, H., & Sagdic, O. (2024). Effects of Fish Skin Gelatin Hydrolysates Treated with Alcalase and Savinase on Frozen Dough and Bread Quality. *Foods*, 13(1), 139. <https://www.mdpi.com/2304-8158/13/1/139>
- Tekle, Ş. (2022). *Balık Atıklarından Protein Hidrolizatlarının Üretilmesi ve Özelliklerinin Belirlenmesi* [Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen

Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Gıda Mühendisliği Bilim Dalı].

- Valcarcel, J., Hermida-Merino, C., Piñeiro, M. M., Hermida-Merino, D., & Vázquez, J. A. (2021). Extraction and Characterization of Gelatin from Skin By-Products of Seabream, Seabass and Rainbow Trout Reared in Aquaculture. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22), 12104. <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/22/12104>
- Vásquez, P., & JosÁ, E. Z. (2018). Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Viscera Proteins of Rainbow Trout (≪em>Oncorhynchus Mykiss). *Advance Journal of Food Science and Technology*, 16(SPL), 292-300. <https://doi.org/10.19026/ajfst.16.5970>
- Vásquez, P., Sepúlveda, C. T., & Zapata, J. E. (2022, 2022/01/01/). Functional properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) viscera protein hydrolysates. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 39, 102268. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102268>
- Vázquez, J. A., Hermida-Merino, C., Hermida-Merino, D., Piñeiro, M. M., Johansen, J., Sotelo, C. G., Pérez-Martín, R. I., & Valcarcel, J. (2021). Characterization of Gelatin and Hydrolysates from Valorization of Farmed Salmon Skin By-Products. *Polymers*, 13(16), 2828. <https://www.mdpi.com/2073-4360/13/16/2828>
- Xu, J., Zhang, T., Zhang, Y., Yang, L., Nie, Y., Tao, N., Wang, X., & Zhong, J. (2021, 2021/09/01/). Silver carp scale gelatins for the stabilization of fish oil-loaded emulsions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 186, 145-154. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.043>
- Xu, M., Wei, L., Xiao, Y., Bi, H., Yang, H., & Du, Y. (2017, 2017/02/01/). Physicochemical and functional properties of gelatin extracted from Yak skin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 1246-1253. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.020>
- Yıldız, K. (2017). *Tavuk derisinden jelatin eldesinin yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu* [Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı].
- You, L., Regenstein, J. M., & Liu, R. H. (2010). Optimization of Hydrolysis Conditions for the Production of Antioxidant Peptides from Fish Gelatin Using Response Surface Methodology. *Journal of Food Science*, 75(6), C582-C587. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01707.x>
- Zamorano-Apodaca, J. C., Garcia-Sifuentes, C. O., Carvajal-Millan, E., Vallejo-Galland, B., Scheuren-Acevedo, S. M., & Lugo-Sanchez, M. E. (2020, Nov 30). Biological and functional properties of peptide fractions obtained from collagen hydrolysate derived from mixed by-products of different fish. *Food Chemistry*, 331. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127350>
- Zhang, Y., Duan, X., & Zhuang, Y. (2012, 2012/11/01/). Purification and characterization of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin. *Peptides*, 38(1), 13-21. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.08.014>

- Zheng, L., Wei, H., Yu, H., Xing, Q., Zou, Y., Zhou, Y., & Peng, J. (2018, 2018/11/07). Fish Skin Gelatin Hydrolysate Production by Ginger Powder Induces Glutathione Synthesis To Prevent Hydrogen Peroxide Induced Intestinal Oxidative Stress via the Pept1-p62-Nrf2 Cascade. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(44), 11601-11611. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02840>
- Zheng, Z., Wang, M., Li, J., Li, J., & Liu, Y. (2020). Comparative assessment of physicochemical and antioxidative properties of mung bean protein hydrolysates [10.1039/C9RA06468K]. *Rsc Advances*, 10(5), 2634-2645. <https://doi.org/10.1039/C9RA06468K>

EKLER

EK-1

Kongre Katılım Belgesi



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	Hayri ERTEM
Uyruğu	T.C.
Orcid Numarası	0009-0009-3648-9104

EĞİTİM BİLGİLERİ	
Lisans	
Üniversite	Hacettepe Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	2014
Yüksek Lisans	
Üniversite	Hacettepe Üniversitesi
Enstitü	Sosyal Bilimler Enstitüsü
Anabilim Dalı	Sağlık Yönetimi
Mezuniyet Yılı	2017
Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Genetik ve Biyomühendislik
Mezuniyet Yılı	2025

Tezden Üretilen Makaleler ve Bildiriler
<p>Uluslararası Konferans ve Sempozyumlarda Sunulan Bildiriler</p> <p>Ertem, H., Tekle, Ş., Bozkurt, F., Sagdic O. (2024). <i>Production of Collagen Hydrolysate From Trout Gelatin, Determination of Technological and Bioactive Properties</i> [Congress Proceedings Book]. 9th International Azerbaijan Congress on Life, Engineering, Mathematical, and Applied Sciences, Bakü, Azerbaycan. http://drive.google.com/file/d/1Ab8jMemwLXF_8K3iLFES9uQF6UZNngat/view, Erişim Tarihi: 15 Ocak 2025.</p>