



T.C.

**AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

***Laurencia pyramidalis* MAKROALGİNDEN PROTEİNLERİN
EKSTRAKSİYON KOŞULLARININ YANIT YÜZEY
METODOLOJİSİ İLE OPTİMİZASYONU: EKSTRAKTLARIN
BİYOAKTİF VE TEKNOFONKSİYONEL POTANSİYELİNİN
ARAŞTIRILMASI VE KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hasret BAŞ YILDIRIM

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Aysun YÜCETEPE

AKSARAY, 2022

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 202324013 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Hasret BAŞ YILDIRIM tarafından hazırlanan “*Laurencia pyramidalis* MAKROALGİNDEN PROTEİNLERİN EKSTRAKSİYON KOŞULLARININ YANIT YÜZEY METODOLOJİSİ İLE OPTİMİZASYONU: EKSTRAKTLARIN BİYOAKTİF VE TEKNOFONKSİYONEL POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI VE KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Aysun YÜCETEPE

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Üye: Prof. Dr. Mustafa ARDIÇ

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Üye: Doç. Dr. Sibel ULUATA

İnönü Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Tez Savunma Tarihi:/...../.....

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Doç. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinalliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

İmza

Hasret BAŞ YILDIRIM

TEŞEKKÜR

Tezimin tüm aşamalarında benden fikirlerini, eleştirilerini, tecrübelerini esirgemeyen, bana özgür bir düşünce ve çalışma ortamı sağlayan sevgili danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Aysun YÜCETEPE'ye çok teşekkür ederim.

Moral ve motivasyon desteği ile her zaman yanımda olan, sabrı ve anlayışına hayran olduğum sevgili eşim İlkay YILDIRIM'a, tüm öğrenim hayatım boyunca bir an olsun elimi bırakmayıp bana sonsuz destek olan aileme çok teşekkür ederim.

Tüm tez çalışmam boyunca bana anlayış gösterip özverili davranan değerli şirket yöneticim Aytaç DOĞAN'a, çalışmalarım sırasında bana destek olan sevgili arkadaşlarım Makine Mühendisi Furkan KIRDÖK'e ve Gıda Mühendisi Hatice DİNÇ'e çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışması 119O149 numaralı ve “Türkiye Denizlerinden Toplanan Bazı Makroalg Örneklerinin Alternatif Protein Kaynağı Olarak Değerlendirilmesi: Biyoaktif Peptit Eldesi, Biyoaktif ve Teknofonksiyonel Özelliklerinin Araştırılması, Enkapsulasyonu ve Stabilite Çalışmaları” başlıklı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 3501 projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle, tezimin gerçekleşmesindeki katkılarından dolayı TÜBİTAK'a çok teşekkür ederim.

Hasret BAŞ YILDIRIM

AKSARAY, 2022

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1 Makroalgler	5
2.1.1 Makroalglerin kimyasal kompozisyonu	5
2.1.2 Makroalglerin fonksiyonel özellikleri	7
2.1.2.1 Protein çözünürlüğü	7
2.1.2.2 Su tutma kapasitesi.....	7
2.1.2.3 Yağ tutma kapasitesi	8
2.1.2.4 Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi.....	8
2.1.2.5 Köpürme kapasitesi ve stabilitesi.....	9
2.1.3 Makroalglerdeki biyoaktif bileşenler ve antioksidan aktivite	10
2.2 Protein Ekstraksiyon Yöntemleri	11
2.2.1 Ultrases destekli ekstraksiyon	12
2.2.2 Enzim destekli ekstraksiyon.....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	14
3.1 <i>Laurencia pyramidalis</i> 'in Toplanması ve Alg Örneklerinin Hazırlanması	14
3.2 Kimyasal Kompozisyonun Belirlenmesi.....	15
3.3 Protein Çözünürlüğü ve Zeta (ζ) Potansiyel Ölçümü.....	15
3.4 Proteinlerin Ultrases Destekli Enzimatik Ekstraksiyonu	16
3.4.1 Protein ekstraktlarının protein içeriğinin ve ekstraksiyon veriminin belirlenmesi	16
3.4.2 Protein Ekstraktlarının Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi.....	17
3.5 Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi	17
3.5.1 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl radikal yakalama (DPPH) metodu	17
3.5.2 Bakır (II) iyonu indirgenme antioksidan kapasitesi (CUPRAC) metodu	17
3.6 Tekno-Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi.....	17
3.6.1 Su tutma kapasitesi.....	18
3.6.2 Yağ tutma kapasitesi	18
3.6.3 Emülsiyon aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi	18
3.6.4 Köpürme kapasitesi ve köpürme stabilitesi	18
3.7 Sodyum Dodesilsülfat Poliakrilamid Jel Elektroforez (SDS-PAGE) ile Tanımlama Çalışmaları.....	19
3.8 Deney Tasarımı ve İstatistiksel Analiz	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	21
4.1 Kimyasal Kompozisyonu	21
4.2 Protein Çözünürlüğü ve Zeta (ζ) Potansiyeli	22
4.3 Modelin Yeterliliği.....	24
4.4 Protein İçeriği ve Ekstraksiyon Verimi.....	24
4.5 Toplam Fenolik Madde	28

4.6 Antioksidan Aktivite	30
4.7 Tekno-Fonksiyonel Özellikler	33
4.7.1 Su tutma kapasitesi.....	33
4.7.2 Yağ tutma kapasitesi	34
4.7.3 Köpürme kapasitesi ve köpürme stabilitesi	35
4.7.4 Emülsiyon aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi.....	35
5. OPTİMİZASYON VE DOĞRULAMA	37
5.1 SDS-PAGE Elektroforez ile Tanımlama Çalışması.....	37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ.....	50



YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Laurencia pyramidalis* MAKROALGİNDEN PROTEİNLERİN EKSTRAKSİYON KOŞULLARININ YANIT YÜZEY METODOLOJİSİ İLE OPTİMİZASYONU: EKSTRAKTLARIN BİYOAKTİF VE TEKNOFONKSİYONEL POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI VE KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARI**

Hasret BAŞ YILDIRIM

**Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Aysun YÜCETEPE

ÖZET

Bu çalışmada kırmızı bir makroalg olan *Laurencia pyramidalis*'den proteinlerin ultrases destekli enzimatik ekstraksiyonunda, ekstraksiyon şartlarının yanıt yüzey metodolojisiyle optimizasyonu amaçlanmıştır. Çalışmada 2 faktör 3 düzey olarak seçilen bağımsız değişkenler ekstraksiyon zamanı ve enzim/substrat oranıdır. Bağımsız değişkenlerin, ekstraktların protein miktarı (PM), toplam fenolik madde miktarı (TFMM) ve antioksidan aktiviteye (AOA) etkisi araştırılmıştır. Ekstraksiyon öncesinde *Laurencia pyramidalis*'in karakterizasyon çalışmaları kapsamında kimyasal kompozisyonu, protein çözünürlüğü ve zeta potansiyel ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, optimum koşullarda elde edilmiş olan protein ekstraktlarında su tutma kapasiteleri (STK), yağ tutma kapasiteleri (YTK), emülsiyon stabilite (ES), emülsiyon aktivite (EA), köpürme kapasiteleri (KK) ve köpürme stabilite (KS) gibi teknofonksiyonel özellikleri araştırılmış ve sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) ile tanımlanması çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sonuçlara göre, *Laurencia pyramidalis* makroalginin kuru ağırlıkta protein içeriği %13,09±0,24, yağ içeriği %0,79±0,00, kül içeriği %26,43±1,37, karbonhidrat içeriği %44,47±0,22 ve ham lif içeriği ise %15,22±0,09'dur. Optimum ekstraksiyon koşullarında (ultrases uygulama süre: 6 dak ve enzim/substrat: 2) elde edilen protein ekstraktlarının kuru ağırlıkta PM 224,69 mg protein/g, TFMM 341,10 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g ve AOA 171,24 mg Trolox eşdeğeri (TE)/g'dir. Optimum noktada elde edilen protein ekstraktlarının STK değeri %97,85±0,29, YTK %189±0,24, EA %43,89±0,06, ES %5±0,00, KK %5,42±0,05 ve KS %1,44±0,01 olarak bulunmuştur. SDS-PAGE analizi sonucuna göre, protein ekstraktında 11 kDa ve 25 kDa arasında görünen birkaç protein fraksiyonları bulunmaktadır. Sonuç olarak, yüksek yağ tutma kapasitesi ve antioksidan aktivitesi ile *Laurencia pyramidalis* makroalginin gıda ürünlerinin yapısal ve tekstürel özelliklerini iyileştirebilme potansiyeline sahip olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Makroalg, *Laurencia pyramidalis*, Algal Proteinler, Ultrases Destekli Ekstraksiyon, Enzim Destekli Ekstraksiyon, Antioksidan Aktivite, Teknofonksiyonel Özellik.

Ağustos, 2022; 50 sayfa

M.Sc. THESIS

OPTIMIZATION OF EXTRACTION CONDITIONS OF PROTEINS FROM *Laurencia pyramidalis* MAKROALGAE RESPONSE SURFACE METHODOLOGY: INVESTIGATION OF BIOACTIVE AND TECHNO- FUNCTIONAL POTENTIAL AND CHARACTERIZATION STUDIES

Hasret BAŞ YILDIRIM

Aksaray University
Faculty of Engineering
Department of Food Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Aysun YÜCETEPE

ABSTRACT

In this study, it was aimed to optimize the extraction conditions of ultrasound-assisted enzymatic extraction of proteins from a red macroalgae *Laurencia pyramidalis* using response surface methodology. The independent variables selected in the study were extraction time and enzyme/substrate ratio with 3 levels. The effects of independent variables on protein content (PC), total phenolic content (TPC) and antioxidant activity (AOA) of the extracts were investigated. Before extraction, chemical composition, protein solubility and zeta potential measurements of *Laurencia pyramidalis* were carried out within the scope of characterization studies of the algae. In addition, techno-functional properties such as water holding capacity (WHC), oil holding capacity (OHC), emulsion stability (ES), emulsion activity (EA), foaming capacity (FC) and foaming stability (FS) of the protein extracts obtained under optimum extraction conditions were investigated. Identification studies were carried out by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). According to the results, *Laurencia pyramidalis* macroalgae had a protein content of $13.09 \pm 0.24\%$, lipid content of $0.79 \pm 0.00\%$, ash content of $26.43 \pm 1.37\%$ and crude fiber content of $15.22 \pm 0.09\%$ in dry weight (dw). The protein extracts obtained under optimum extraction conditions (ultrasound application time of 6 min and enzyme/substrate of 2) were found to be PC 224.69 mg protein/g dw, TPC 341.10 mg gallic acid equivalent (GAE)/g dw and AOA 171.24 mg TE/g dw. The WAC, OAC, EA, ES, FC and FS of the protein extracts obtained under optimum extraction conditions were $97.85 \pm 0.29\%$, $189 \pm 0.24\%$, $43.89 \pm 0.06\%$, $5 \pm 0.00\%$, 5.42 ± 0.05 , and 1.44 ± 0.01 , respectively. According to the result of SDS-PAGE analysis, the protein extract had a few protein fractions between 11 kDa and 25 kDa. As a result, *Laurencia pyramidalis* macroalgae with high OAC and AOA can improve the structural and textural properties of foods.

Key words: Macroalgae, *Laurencia pyramidalis*, Algal Proteins, Ultrasound Assisted Extraction, Enzyme Assisted Extraction, Antioxidant Activity, Technofunctional Property.

August, 2022; 50 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	Makroalg toplama çalışmalarından görüntüler.	14
Şekil 3.2.	Partikül çapı <500 µm öğütülmüş <i>Laurencia pyramidalis</i>	15
Şekil 4.1.	<i>Laurencia pyramidalis</i> 'in pH 2,0'den 13,0'e değişen pH değerlerinde % protein çözünürlüğü ve zeta potansiyel (mV) değerleri.....	23
Şekil 4.2.	Örneklerin protein içeriği üzerine E/S ve ultrases uygulama süresi arasındaki ilişkiyi gösteren 2D kontur plot grafiği.	27
Şekil 4.3.	Örneklerin protein içeriği üzerine E/S ve ultrases uygulama süresi arasındaki ilişkiyi gösteren 3D kontur plot grafiği.	27
Şekil 4.4	Örneklerin fenolik madde içeriği üzerine E/S ve ultrases uygulama süresi arasındaki ilişkiyi gösteren 3D kontur plot grafiği.	30
Şekil 4.5	Örneklerin fenolik madde içeriği üzerine E/S ve ultrases uygulama süresi arasındaki ilişkiyi gösteren 3D kontur plot grafiği.	30
Şekil 4.6	Örneklerin antioksidan aktivite içeriği üzerine E/S ve ultrases uygulama süresi arasındaki ilişkiyi gösteren 3D kontur plot grafiği.	33
Şekil 4.7	Örneklerin antioksidan aktivite içeriği üzerine E/S ve ultrases uygulama süresi arasındaki ilişkiyi gösteren 3D kontur plot grafiği.	33
Şekil 5.1.	80 V, %12 ayırma jeli, %5'lik yürütme jeli koşullarında, <i>Laurencia pyramidalis</i> protein ekstraktının SDS-PAGE görüntüsü.	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Merkezi kompozit dizayn için bağımsız değişkenlerin gerçek ve kodlanmış seviyeleri.	20
Çizelge 4.1. <i>Laurencia pyramidalis</i> makroalginin kimyasal kompozisyonu.	21
Çizelge 4.2. Doğal ve kodlanmış ekstraksiyon şartlarıyla Box-Behnken deney tasarımı ve deneysel olarak elde edilen yanıtların değerleri.	26
Çizelge 4.3. İkinci dereceden polinomyal modelin varyans analizi (ANOVA).	26
Çizelge 4.4. İkinci dereceden polinomyal modelin varyans analizi (ANOVA).	29
Çizelge 4.5. İkinci dereceden polinomyal modelin varyans analizi (ANOVA).	31
Çizelge 5.1. Araştırılmış olan yanıtların hedef ve öngörülen değerleriyle optimize edilmiş ekstraksiyon şartları.	37



SİMGELER VE KISALTMALAR

AOA	Antioksidan Aktivite
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
BAE	Ultrason Destekli Ekstraksiyon
CCD	Merkezi Kompozit Dizayn
CV	Varyasyon Katsayısı
DPPH	2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
EA	Emülsiyon Aktivite
EAE	Enzim Destekli Ekstraksiyon
EDE	Enzim Destekli Ekstraksiyon
ES	Emülsiyon Stabilitesi
FK	Köpürme Kapasitesi
GSH	Glutasyon
HPP	Yüksek Basıncılı İşlem
KK	Köpürme Kapasitesi
KS	Köpürme Stabilitesi
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidrooksit
OHC	Yağ Tutma Kapasitesi
PM	Protein Miktarı
RSM	Yanıt Yüzey Metodolojisi
SDS-PAGE	Sodyum Dodesilsülfat Poliakrilamid Jel Elektroforez
STK	Su Tutma Kapasitesi
TCA	Trikloraasetik Asit
TE	Trolox eşdeğeri
TFMM	Toplam Fenolik Madde Miktarı
UDE	Ultrases Destekli Ekstraksiyon
YTK	Yağ Tutma Kapasitesi
WHC	Su Tutma Kapasitesi
°C	Santigrat
ζ	Zeta Potansiyeli

1. GİRİŞ

Makroalgler, ipliksi yapıda mikroskopik açıdan birkaç metre uzunluğuna varan farklı morfolojilerde gözlemlenebilen, selüloz çeperi barındıran, basit yapıda, gerçek kök, gövde ve yaprak yapısı bulundurmeyen talluslu formda ve genelde ökaryotik olan canlılardır (Sasa vd., 2020). Yapılarındaki pigmentler sayesinde karbondioksit ve suyu ışığın katkısı ile karbonhidrata dönüştürerek su ortamındaki besin değerinin artmasını sağlayıp aynı zamanda birçok sucul canlıya besin kaynağı oluşturmaktadırlar. Ek olarak suda bulunan çözünmüş oksijeni artırmak suretiyle ekolojik dengeye katkıda bulunurlar. Makroalgler, dünyanın gereksinimi olan fotosentetik karbon ihtiyacının üçte ikisini karşılamaları sebebi ile de tüm ekosistemin bütünlüğünü korunması bakımından da oldukça önemlidirler (Özdemir ve Erkmen, 2013).

Alternatif protein kaynaklarından olan makroalglerin çevreye dost, sürdürülebilir ve ucuz bir kaynak olmaları sebebi ile gelecekte ortaya çıkması muhtemel gıda talebinin karşılanmasında önemli rol oynamaları beklenmektedir. Ayrıca içerdikleri değerli besin öğeleri ve biyoaktif özellikler ile gıda sanayisinde fonksiyonel gıda üretiminde önemli bir potansiyele sahip oldukları düşünülmektedir. Uygun koşullarda ağırlıklarını bir gün içinde 2-3 kat artırabilmeleri, üretilibilmelerinin zahmetsiz ve ekonomik olması gibi nedenlerden dolayı makroalglerin, gelecek yıllarda gıda gereksinimlerinin karşılanması noktasında oldukça önemli bir kaynak olacakları öngörülmektedir. Ayrıca, makroalglerin yetiştirilmeleri için karasal bitkiler gibi su ve ekim gerektiren bir ortama gerek duymaması açısından da önemli bir avantaja sahip olduğu bilinmektedir (Bleakley ve Hayes, 2017).

Makroalgler su ortamının primer üretici canlıları olup, besin zincirinin önemli bir parçasını oluşturmaktadırlar. Makroalgler doğa üzerinde bulunan biyolojik aktivitesi en yüksek kaynaklar arasında gösterilip, yapılarında birçok biyoaktif bileşeni barındırmaktadırlar. Makroalglerin proteinler, aminoasitler, vitaminler ve çeşitli mineral maddeler bakımından zengin oldukları ve aynı zamanda polisakkaritler, steroller ve yağ asitleri barındırdıkları ve bu sebeple de kullanım alanlarının fazla olduğu bilinmektedir (Akyıl vd., 2016).

Antioksidanlar, oksidasyon zincir reaksiyonunun başlangıcını ya da ilerlemesini engelleyerek hücresel substuratların oksidasyonunu önleyen ya da gecikmesini

sağlayan maddelerdir. Bu maddeler genellikle oksidatif strese karşı organizmada normal şartların devamlılığını sağlamak için önemlidirler. Bu nedenle, antioksidanların tüketimi ve gıda materyallerine eklenmesi gıda ürünleri için önem arz etmektedir (Gümüş vd., 2019). Çok sayıda araştırma, makroalg ekstraktlarının yüksek antioksidan etkiye sahip olduğunu bildirmiştir. Makroalglerdeki antioksidan aktiviteye sahip bileşikler, oksidasyonun engellenmesine ya da geciktirilmesine katkı sağlamaktadır. Bu durumun klorofil ve β -karoten benzeri pigmentler, α -tokoferoller, niasinler, tiaminler ve askorbik asitler benzeri vitaminler, polifenolikler, flavonoidler gibi fenol bileşikler, fosfolipitler, karotenoidler, terpenoitler, sülfatlanmış polisakkaritler, peptitler ve başka antioksidatif özellik gösteren bileşiklerden kaynaklandığı rapor edilmiştir (Gümüş, 2014; Kelman vd., 2012).

Proteinler, amfifilik özellikleri, su tutma kapasiteleri, yağ tutma kapasiteleri, emülsifikasyon ve köpürme özellikleri gibi fonksiyonel özellikleri ile gıda ürünlerine olumlu yönde katkıda bulunurlar. Makroalglerin geleceğin protein kaynakları olarak düşünülmesinden dolayı, gelecekte protein ihtiyacının karşılanmasında, hatta zamanla hayvansal ve bitkisel protein kaynaklarının yerini almaları öngörülmektedir. Bazı makroalglerin protein oranlarının, geleneksel protein kaynaklarından olan et, süt, yumurta ve soyada bulunan protein oranına yakın olduğu bildirilmektedir (Barka ve Blecker, 2016; Bleakley ve Hayes, 2017). Makroalglerin protein içeriği bulunduğu renk sınıfına göre farklılık göstermektedir. Örneğin; kahverengi makroalglerin protein içeriğinin genel olarak düşükken, yeşil makroalglerin ve genelde kırmızı makroalglerin (*Porphyra spp.*, *Pyropia spp.*, *Palmaria palmata* ve *Ulva spp.* gibi) protein içeriklerinin daha yüksek (kuru bazda %15'ten fazla) olduğu bildirilmektedir (Fleurence, 1999). Diğer taraftan Gajaria vd. (2017), *Ulva lactuca*'nın kuru ağırlıkta %11 $\pm$ 2,12 oranında protein içerdiğini bildirmiştir. Benzer şekilde Irmouli vd. (1999) tarafından yapılan çalışmada ise *Palmaria palmata* kırmızı makroalgi için en yüksek protein içeriği kış ve ilkbahar mevsimlerinde %21,9 olarak tespit edilirken, yaz ve sonbahar döneminde %11,9 olarak bildirilmiştir.

Makroalgal proteinlerin başarılı bir şekilde ekstraksiyonu için hücre duvarının uygun şekilde parçalanabilmesi gerekmektedir. Bu nedenle makroalg hücre duvarlarının karmaşık yapısı, protein kaynağı olarak kullanılmasındaki ana zorluktur. Makroalglerin bu karmaşık hücre duvarı bütünlüğünü bozmak için çeşitli ekstraksiyon

yöntemleri uygulanmaktadır. Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinden olan mekanik öğütme, ozmotik şok ve fiziksel işlemler gibi protein ekstraksiyon yöntemleri, zahmetli ve zaman alıcıdır. Yeni protein ekstraksiyon yöntemlerinden olan ultrases destekli ekstraksiyon, darbeli elektrik alan yöntemi ve mikrodalga destekli ekstraksiyon gibi yöntemler, bu zor aşamaların üstesinden gelmenin bir yolu olarak araştırılmıştır. Bu yöntemlerin arasında ultrases destekli ekstraksiyon (UDE), yüksek değerli bileşiklerin ekstraksiyonu için uygun maliyetli ve düşük solvent tüketimli bir yöntem olarak bilinmektedir (Bleakley ve Hayes, 2017; Gordalina vd., 2021).

Ultrases uygulaması, ekstrakt elde etmede ısı kullanılmadan uygulanan alternatif ekstraksiyon yöntemleri arasındadır. Ultrases, ses dalgalarının saniyede 20.000 veya daha çok titreşim oluşturmaları sonucu ile üretilebilen bir enerji türüdür. Ultrasonik uygulama, hücre duvarlarını mekanik olarak parçalar. Böylece, hücre duvarının bütünlüğünün bozulmasıyla hücre içindeki bileşenler, hücre dışına kolayca çıkabilmektedir. Ultrases teknolojisi uygulanan ürünlere hasar vermemesi, uygulanabilir oluşu ve çevre dostu olması gibi özellikleri sebebi ile gıda sanayisinde uygulanma potansiyeline sahip bir ekstraksiyon yöntemidir (Ergün vd., 2013).

Laurencia taksonomik olarak kabul edilen yaklaşık 130 türden oluşan önemli bir kırmızı makroalgdir. *Laurencia* cinsi makroalglerin geniş bir coğrafi dağılıma sahip olduğu bilinmektedir. Özellikle ılıman ve tropik kıyıları oluşturan tüm bölgelerde floranın önemli bir bölümünü oluşturmaktadırlar (Demirel vd., 2011). Silindirik yapıda ve aşağıdan yukarıya doğru daralan bir piramit şeklinde olan *Laurencia pyramidalis*'in tallus boyu 10-15 cm ve ana ekseninin çapı yaklaşık olarak 1 mm'dir (Taşkın ve Çakır, 2022).

Bu tez çalışmasının amaçları;

- (i) *Laurencia pyramidalis*'in kimyasal kompozisyonunun belirlenmesi,
- (ii) *Laurencia pyramidalis*'in zeta potansiyeli ve protein çözünürlüğünü üzerine pH'nın etkisinin belirlenmesi,
- (iii) *Laurencia pyramidalis*'den proteinlerin ultrases desteği ile enzimatik ekstraksiyonda ekstraksiyon şartlarının yanıt yüzey metoduyla optimizasyonu,
- (iv) Ekstraksiyon şartlarının fenolik madde, protein miktarı ve antioksidan aktivite üzerine etkisinin belirlenmesi,

- (v) Uygun koşullardaki protein ekstraktlarında yağ ve su tutma kapasitesinin, emülsiyon aktivite ve stabilitesinin, köpürme kapasite ve stabilitesi gibi teknofonksiyonel özelliklerinin araştırılması,
- (vi) Proteinlerde sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) desteğiyle tanımlanması çalışmasının yapılmasıdır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Makroalgler

Biyolojik ve ekolojik fonksiyonları ile deniz ekosisteminin en önemli canlı gruplarından olan makroalgler, denizde yaşayan farklı canlıların beslenme, barınma ve üreme gibi hayati ortamlarını oluşturmaktadırlar. Aynı zamanda fotosentez yapma özellikleri ile de ortamın oksijenasyonunu sağlarlar. Makroalgler çok hücreli, çabuk büyüyen, iri boyutlu, çıplak göz ile görülen bitki benzeri protistaların farklı bir grubudur. Genellikle kıyıya yakın alanlarda bulunan, boyları türlerine göre 1-2 cm ile 40-50 m arasında değişebilen bitkisel organizmalardır. Dünya genelinde, 43 ülkede üretilen 28 milyon ton makroalgin, 800 bin tonluk kısmı doğadan toplanırken, % 94'ü kültüre edilmesiyle yetiştiricilik yoluyla elde edilmektedir (Ak, 2015). Makroalgler, suda yaşayan canlıların gıda zincirlerinin en önemli üreticileri olup pigment renklerine göre 3'e ayrılırlar: Kahverengi makroalgler (Phaeophyta), kırmızı makroalgler (Rhodophyta) ve yeşil makroalgler (Chlorophyta). Bölünme ile çoğalabilmeleri sebebiyle oldukça hızlı biyokütle artışı gösteren makroalglerden yağ ve yağ asitleri, protein, karbonhidrat, pigment, mineral, vitamin, sterol, antioksidan ve biyoaktif polifenolik maddeler gibi metabolitler üretilmektedir (Aktar, 2010).

Kırmızı makroalgler yaklaşık 6000 türe sahip, çoğunlukla çok hücreli makroalglerden oluşan büyük bir gruptur. Deniz habitatlarında bol miktarda bulunurken, tatlı sularda nispeten bulundukları bilinmektedir. Kırmızı makroalglerin renginin, alge kırmızı rengi veren fikoeritrinlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Ak, 2015; Alçay, 2017). Kırmızı makroalglerin gövdeleri jel benzeri bir madde ile sarılmıştır. Bünyelerinde barındırdıkları farklı oranlarda mannan, ksilan, galaktan bulunan musilaj maddeler, pektik madde ve selüloz karışımları hücre çeperlerini oluşturmaktadırlar. Bu hücre çeperleri kolayca jel kıvamına dönüşebildiği için sanayide çeşitli fikokolloidlerin elde edilmesinde bu makroalglerden yararlanılabilmektedir (Fleurence vd., 2012).

2.1.1 Makroalglerin kimyasal kompozisyonu

Makroalglerin kimyasal kompozisyonu türe, mevsime ve habitatına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Makroalgler, proteinler, yağda ve suda çözünebilen lif içeriklerinin yanı sıra iz elementler (çinko, nikel, kobalt, demir, magnezyum, potasyum), steroller, steroidler, yağ asitleri, fenolik bileşenler (fenolik asitler,

flavonoidler, antosiyaninler, kumarin, lignan, tanen, kinon), fitohormonlar (öksin, giberellin), pigmentler, peptit, aminoasit, vitaminler (B12, folik asit, nikotinik asit, pantotenik asit, B1, B2, E, K) ve uçucu bileşenler (asetik, akrilik, butirik, formik, miristik, palmitik asit, aldehitler, alkoller, terpenler ve fenoller) açısından zengindir (Gressler vd. 2010). Ayrıca makroalglerin esansiyel aminoasit içeriklerinin de geleneksel kaynaklar ile karşılaştırılabilecek düzeyde olduğu, hatta daha yüksek oranlarda olabildiği bildirilmektedir (Barka ve Blecker, 2016). Kahverengi makroalglerin protein içeriğinin genelde düşük (kuru bazda <%15), yeşil ve kırmızı makroalglerin (örneğin *Porphyra* spp., *Pyropia* spp., *Palmaria palmata*, *Ulva* spp.) ise daha fazla olduğu bildirilmiştir (Skrede vd., 2011; Wells vd., 2017).

Makroalgler polisakkaritler bakımından oldukça zengindir ve kuru ağırlıkta %4-76 arasında değişebilen oranlarda polisakkarit içermektedir. Makroalg polisakkaritleri olarak bilinen agar, aljinat, agaroz ve karragenan gibi hidrokolloidler bazı içecek ürünlerine ve et ve süt ürünlerine katkı maddesi olarak eklenmektedir (Connan vd., 2004; Wells vd., 2017). Genelde yeşil makroalgler sülfatlanmış polisakkarit, sülfatlanmış galaktan ve ksilan içerir; kahverengi makroalgler aljinik asit, fukoidan ve laminaran; kırmızı makroalgler ise agar, karragenan, ksilan, floridean-niştasta, suda çözünebilen sülfatlanmış galaktan ve porfiran içerdikleri bilinmektedir. Ayrıca makroalglerin içerdikleri oligo ve polisakkaritler ile prebiyotik etki gösterip bağırsak mikroflorasını iyileştirebildiği, bu bakımdan özellikle kahverengi makroalglerin barındırdığı fukoidan, laminaran ve aljinatın oldukça önemli oldukları bildirilmiştir (Gupta vd., 2013).

Makroalglerin ürettiği lipitler; fosfolipit, glikolipit ve sfingolipitler gibi polar ve triaçilgliserol, sterol, serbest yağ asitleri gibi polar olmayan lipitler olarak ikiye ayrılırlar (Kosanovic vd., 2018; Kumar, 2014). *Laurencia* spp.'nin yağ asitleri üzerinde yapılan araştırmalar, bu türlerin bazı yağ asitleri açısından zengin olduğunu göstermiştir. Örneğin, Gressler vd. (2010) tarafından yürütülen bir çalışmada, *Laurencia filiformis*'de eikosapentaenoik asitin (EPA, C20:5) baskın yağ asidi olduğu rapor edilmiştir.

2.1.2 Makroalglerin fonksiyonel özellikleri

2.1.2.1 Protein çözünürlüğü

Protein çözünürlüğü belirli koşullar altında çözünür durumda olan bir protein ürünündeki azot oranı olarak kabul edilir. Aynı zamanda, hammaddeden protein yararlanabilirliğini gösteren önemli bir parametredir (Torres vd., 2019). Proteinlerin fonksiyonel özelliklerini sergileyebilmeleri temel olarak çözünebilir olmaları ile ilgilidir. İçecek ürünlerinde, köpüklerde, emülsiyonlarda proteinin fonksiyonel özellik gösterebilmesi için çözünür özellik taşımaları gerekir. Proteinlerin çözünürlüğünün özellikle düşük viskoziteli gıdalar için bulanıklığı önlemede önemli bir faktör olduğu bilinmektedir (Sahoo ve Seckbach, 2015; Yavuz ve Özçelik, 2016).

Makroalgler ile yapılan çalışmalar protein çözünürlüğünün iyonik güç, çözücü tipi, pH, sıcaklık ve işleme koşulları gibi faktörlerden etkilendiği yönündedir. Sıcaklık faktörü, protein denatürasyonu nedeniyle protein çözünürlüğünü azaltabilmektedir. Soğuk hava şartlarına (4 °C) adapte olan makroalglerin, sıcak hava şartlarına (20 °C-50 °C) göre ekstraksiyon veriminin daha az olacağını ve buna bağlı olarak yüksek sıcaklığa adapte makroalglerde yapılan deneylerin sonucunda daha yüksek protein çözünürlüğü elde edileceği bildirilmiştir. Aynı zamanda düşük pH (2-3) değerlerinde ve kısa süreli (2-3 sa) osmotik şok etkisi ile yüksek protein çözünürlüğü elde edileceği rapor edilmiştir (Vilg ve Undeland, 2017).

2.1.2.2 Su tutma kapasitesi

Su tutma kapasitesi (STK), dış bir kuvvete bağlı olmadan (yer çekimi kuvveti veya atmosfer basıncı harici) bağlanan su miktarı olarak tanımlanmaktadır. Protein kaynaklı gıdaların yapılarında barındırdıkları su, gıdaların tekstürel özelliklerini iyileştirmektedir. Su tutma yoluyla protein, su alıp şişerek karakteristik yapıyı ve viskozite gibi gıdaların önemli reolojik özelliklerini ortaya çıkarır (Güzel, 2011).

Su tutma kapasitesi proteinler için en önemli fonksiyonel özelliklerdendir. Yüksek su tutma kapasitesine sahip olan proteinler nem kaybını azaltmaya yardımcı olarak gıdaların raf ömrünü artırırlar (Göksel, 2011; Yüce-tepe, 2017). Buna bağlı olarak su tutma kapasitesi gıda sanayisinde hazır muhallebi, sosis, hamur ve unlu mamuller gibi viskoz gıdalarda koyulaşma ve viskozite sağladıkları, aynı zamanda nem dengesi

sağlayarak gıda ürünlerinin dokusunu iyileştirdikleri bildirilmiştir (Dede vd., 2011; Kovalenko vd., 2011).

Makroalglerin su tutma kapasitesinin diğer yüksek bileşenli gıdalarla karşılaştırılabilecek kadar yüksek olduğu çalışmalarda bildirilmiştir. Makroalglerin yüksek oranda su tutma kapasitesine sahip olmasının, yapılarında bulunan yüksek miktardaki çözünmez karbonhidratlardan kaynaklandığı rapor edilmiştir (Grossman vd., 2011; McHugh, 2003).

2.1.2.3 Yağ tutma kapasitesi

Proteinler ve lipitler arasında oluşan etkileşimler gıdaların tekstürel kalitelerini belirlemektedir. Bu etkileşimler pH, iyonik güç, sıcaklık ve sistemdeki başka parametrelerden etkilenebilmektedir. Çözünürlüğü düşük olan ve yüksek hidrofobik özellik taşıyan proteinlerin yüksek oranlarda yağ bağlama yeteneklerinin olduğu görülmektedir (Güzel, 2011). Yağ tutma kapasitesi (YTK), tüketim için formüle edilmiş gıdalarda kullanılan gıda bileşenlerinin bir fonksiyonel özelliğidir. Yüksek yağ absorblayabilme özelliği, su ve yağ emülsiyonlarında stabilitenin sağlanabilmesi bakımından son derece önemlidir (Göksel, 2011). Proteinler ile yağların etkileşimlerinin, gıdaların lezzet ve tekstürel özelliklerinde etkili olması sebebiyle, proteinlerin yağ absorplama özellikleri gıda sanayisi için önemli bir özelliktir. Yüksek YTK değerlerine sahip bileşenler, gıda emülsiyonlarının ve yüksek yağlı gıdaların stabilizasyonuna destek olurlar. Bu faktörler göz önüne alındığında yağ tutma kapasitesinin gıda sanayinde önemli bir yere sahip olduğunu ve bu bağlamda sos, mayonez ve kek gibi ürünler için yağ dengesi sağladığı bilinmektedir. Makroalglerin üstün yağ tutma kapasitesinin, gıda ürünlerinde doku geliştirmede önemli olacağı yapılan çalışmalar ile rapor edilmiştir (Bobrovskiy vd., 2021; Güzel, 2011; Rosemary vd., 2019).

2.1.2.4 Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi

Emülsiyon; mekanik etki eşliğinde, emülgatör aracılığı ile sürekli sıvı fazda damlacık formunda disperse olan süreksiz bir fazın bulunduğu birbiri içinde çözünmeyen sıvılardan oluşan bir karışımdır. Emülsiyon oluşturma kapasitesi; belirli bir miktar protein ile emülsifiye edilecek olan maksimum yağ miktarı olarak tanımlanır ve g

yağ/g protein olarak ifade edilir (Gündoğan, 2019). Emülsiyon aktivitesi (EA) bir proteinin, su ve yağ ara yüzeyinde bulunan yağı emerek emülsiyon oluşturmada şeklinde ifade edilir. Emülsiyon stabilitesi ise pH, damlacık boyutu, net yük, arayüzey gerilimi, viskozite ve protein yapısı parametrelerinden etkilenebilmektedir (Benjama ve Masniyom, 2012; Yücepe, 2017).

Gıdadaki yapı ve yapıları oluşturan birimler arasındaki emülsiyonların gıda sanayisinde önemli bir rolü vardır. Bu emülsifiyer bileşenler gıdanın tekstürel özelliklerini iyileştirici etkilere sahiptir. Emülsiyon aktivitenin gıda sanayisinde mayonez, kahve, krema likörleri, meyveli içecekler, bazı et ürünlerinde ve diğer gıda ürünlerinin yapısını iyileştirmede önemli rol oynadığı bilinmektedir (Bakkaloğlu, 2021).

2.1.2.5 Köpürme kapasitesi ve stabilitesi

Köpük, gaz hücrelerinin sürekli sıvı içinde dağıldığı iki fazlı bir sistemdir. Köpükler, gıdaların hacim ve tekstürüne katkıda bulunur. Köpük oluşturma özelliklerinin pH, sıcaklık ve diğer bileşiklerin varlığına bağlı olduğu literatürde bildirilmektedir. Köpük kapasitesi gıdaların fiziksel özelliklerini olumlu yönde etkilemektedir. Bu bağlamda köpürme kapasitesinin gıdaların yapısındaki ince hava hücrelerinin düzgün dağılımına katkıda bulunan bir parametre olduğu söylenebilir (Madsen ve Chronakis, 2011).

Protein köpükleri amfifilik davranışı ile ilgili olarak, elastik ve yoğun bir yapı oluşturmada özel bir rol oynarlar. Genel olarak, bir proteinin iyi köpükler yapması için yüzeyinde hem hidrofobik hem de hidrofilik gruplar bulunan açık bir protein yapısı ve iyi bir esneklik gereklidir (Anderson vd., 2008).

Proteinlerin köpük oluşturma özelliği gıda sanayisinde oldukça önemli bir yere sahiptir. Gıda formülasyonlarını, gıdanın pürüzsüzlüğünü, hafifliğini ve lezzetini iyileştirebildikleri yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Gıdaların lezzetini artırma özelliğinin, aromaların uçmasına izin veren hava kabarcıklarının oluşumu ile ilgili olduğu bilinmektedir. Gıda sanayisinde köpük oluşumunun bira, kremler, salata sosları, ekmek, kek, kurabiye, donmuş tatlılar ve diğer unlu mamuller gibi ürünlerin üretimlerinde önemli yere sahip oldukları bilinmektedir (Bleakley ve Hayes, 2021).

2.1.3 Makroalglerdeki biyoaktif bileşenler ve antioksidan aktivite

Biyoaktif bileşenler, fizyolojik ve hücrel aktiviteleri etkilemek suretiyle sağlık açısından pozitif etkiler yaratan ikincil metabolitlerdir. Bitkisel kaynaklar biyoaktif bileşenlerce zengin gıdalardır. Ekosistemin bütünlüğü için büyük önemi olan makroalglerin, içerdiği yüksek değerlikli biyoaktif bileşikler bakımından diğer bitkilerle karşılaştırılabilir düzeyde oldukları bilinmektedir. Aynı zamanda, fenolik bileşikler de dahil olmak üzere biyolojik olarak işlevsel birçok maddenin kaynağıdır. Makroalgler bir çok metaboliti sentezleme yeteneklerinden dolayı doğal reaktörler olarak edilirler. Aynı zamanda içerdikleri yüksek besin içerikleri ve biyoaktif bileşenlerle fonksiyonel gıda olarak değerlendirilirler (Ranga vd., 2009).

Makroalgler, karada yaşayan bitkiler ile kıyaslandığında daha zorlu, agresif ve rekabetçi çevrelerde bulunmaları, doğal yaşam koşulları gereği yüksek oksidatif ve serbest radikallerin stresinden daha fazla etkilenmeleri, makroalgleri evrimsel açıdan özellikle de pigmentler ve polifenollerin sentezleri başta olmak üzere çeşitli biyoaktif maddeler ve ikincil metabolitlerin üretilmesi gibi doğal koruma sistemlerini oluşturmaya yönettmiştir. Makroalglerin doğal koruma mekanizması ile ürettikleri bu bileşenlerin tüketildiği takdirde sağlığa olumlu etkiler gösterebilen maddelerdir. Makroalgler, pigment ve polifenoller haricinde uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri, yüksek lif içerikli bileşenler, sterol, protein, şeker, vitamin, mineral gibi sağlık açısından faydalı öğeler içermektedirler (Bleakley ve Hayes, 2017).

Makroalgler, askorbat ve glutatyon gibi antioksidan moleküllerin yanı sıra karotenoidler, mikosporin benzeri amino asitler, kateşinler, florotanninler gibi daha kararlı molekülleri sentezler (Demirel vd., 2011). Makroalglerde bulunan bu yüksek değerlikli bileşenlerin sağlığı olumlu yönde etkilediği kaynaklarda bildirilmiştir. Örneğin bağırsıklığı düzenlediği, diyabet, oksidasyon, iltihaplanma, yüksek kolesterol ve kardiyovasküler hastalıkları önlediği, obezite ve dengesiz beslenmeye karşı olumlu etkiler gösterdiği bilinmektedir (Akyıl vd., 2016).

Antioksidanlar, oksijen radikallerinin ilgili dokular içinde sebep olabilecekleri hasarları engelleyebilen, geciktirebilen veya olası bir hasar onarımında yer alan bileşenlerdir. Antioksidanların peroksitlerle ilerleyen reaksiyonları engelleyerek oksidasyonun önüne geçtikleri de bilinmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Makroalglerin, yüksek antioksidan etkiye sahip bileşikler içermeleri nedeni ile zengin bir antioksidan kaynağı oldukları rapor edilmiştir. Makroalglerdeki yüksek antioksidatif etki glutatyon, askorbik asit, α - tokoferol, β -karoten, flavonoid, hidrokinon, fikosiyanin, prolin, mannitol, myoinositol, fenolik bileşenler ve poliaminler gibi enzimatik olmayan antioksidan bileşikleri ileri seviyede içermelerinden kaynaklanmaktadır (Mallick, 2002).

Makroalgler karotenoid, fikobilin pigmentleri, polifenoller, sülfatlanmış polisakkaritler ve vitamin içermeleri sebebi ile hücreleri reaktif oksijen türlerinin etkisine karşı koruyabilmektedir. Antioksidan özellikleri bakımından makroalglerin doğrudan tüketilmesinin, yapay antioksidan maddelere göre daha yararlı olabileceği bilinmektedir. Makroalg kökenli antioksidan bileşenlerin antioksidan özellikli fonksiyonel ürünler elde edilmesini sağlayabilecek nitelikte olduğu rapor edilmiştir (Kosanovic vd., 2018; Ranga vd., 2009).

2.2 Protein Ekstraksiyon Yöntemleri

Makroalg proteinlerin başarılı bir şekilde ekstraksiyonu, çoğu hücre içi olarak üretildiğinden, erişilebilirliklerine büyük ölçüde bağlıdır. Bu nedenle, makroalg hücre duvarlarının karmaşık yapısı, alglerin protein kaynağı olarak kullanılmasındaki ana zorluktur. Algal hücreler birçok hücre içi enzim ve proteine sahiptir. Hücre duvarları, diğer moleküllerin yanı sıra su ve metal katyonları ile etkileşime giren polisakkaritler olmak üzere yüksek düzeyde entegre bir biyopolimer ağından oluşur. Protein verimini arttırmak için ekstraksiyon yöntemleri ve saflaştırma tekniklerinin kombinasyonu gereklidir (Gordalina vd., 2021).

Makroalg proteinlerinin ekstraksiyonu geleneksel yöntemlerle (osmotik şok ve mekanik parçalama gibi) yapılabilir. Ancak geleneksel prosedürlerle ekstraksiyonun, karbonhidrat yapılı hücre duvarı tarafından engellenmesi nedeni ile tercih edilmemektedir. Bunun yerine daha avantajlı olduğu bilinen yeni ekstraksiyon yöntemleri (ultrases destekli ekstraksiyon, darbeli elektrik alan ve mikrodalga destekli ekstraksiyon gibi) tercih edilmektedir (Chronakis, 2001).

Makroalg proteinlerin başarılı bir şekilde ekstraksiyonu, kahverengi makroalglerdeki aljinatlar ve kırmızı makroalglerdeki karagenanlar gibi yüksek viskozite ve anyonik

hücre duvarı polisakkaritleri tarafından büyük ölçüde engellenebilen protein moleküllerinin varlığından etkilenebilir. Bu nedenle, makroalg protein ekstraksiyonunun verimliliğini artırmak için hücre parçalama yöntemleri ve seçilen kimyasal reaktiflerin önemli olduğu bildirilmiştir (Harnedy ve Fitz, 2011; Fleurence, 1999).

2.2.1 Ultrases destekli ekstraksiyon

Ultrases dalgaları 20 kHz'den daha yüksek frekanslarda ses dalgaları aracılığıyla sıkıştırma ve açma işlemi oluşturarak hareket etmektedir. Ultrases destekli ekstraksiyonun (UDE), özellikle biyoyararlanımı iyileştirmek için bitki mikro besinlerinin modifikasyonu, eşzamanlı ekstraksiyon ve kapsülleme, biyoaktif bileşiklerin bozulmasını önleme ve fenoliklerin ve karotenoidlerin biyoaktivitesini artırma gibi amaçlarla uygulanabileceği rapor edilmiştir (Gordalina vd., 2021).

Ultrases destekli ekstraksiyonda, akustik kavitasyon tarafından oluşturulan kabarcıkların oluşumu, büyümesi ve patlaması söz konusudur. Bu kabarcıkların şiddetli patlaması, hedef bileşiğin partikül parçalanmasını ve bozunmasını kolaylaştıran aşırı basınç ve sıcaklıkta mikroskobik bölgeler yaratır. Ultrases uygulamasının mekanik aktivitesi, solventlerin dokuya yönelik olan dağılımını hızlandırmaktadır. Mekanik açıdan hücre duvarı yıkıldığı için hücre içi bileşenler, çözücü solvante kolayca geçebilmektedir (Vilkhu vd., 2008).

Ultrases destekli ekstraksiyon yönteminin geleneksel yöntemlere kıyasla daha avantajlı olduğu bilinmektedir. Bu yöntemde geleneksel yöntemlere göre daha düşük ekstraksiyon sıcaklıkları kullanılması ve daha kısa ekstraksiyon süresine sahip olması diğer yöntemlerden ayrılan en önemli parametrelerdir. Ultrases destekli ekstraksiyonda bu parametrelere bağlı olarak yüksek saflıkta bir nihai ürüne daha az alt işlem uygulanır. Buna bağlı olarak tercih edilen ekstraksiyon yöntemleri arasında yer almaktadır (Ergün vd., 2013).

Wang vd. (2015) kırmızı bir makroalg olan *Porphyra yezoensis*'ten taurinin ultrases destekli ekstraksiyonunu gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada, ultrasonik işlemin, geleneksel ekstraksiyon yöntemine kıyasla benzer bir verimle taurin elde etmek için 9 kat daha az zaman gerektirdiği gösterilmiştir. Bu nedenle UDE'nun, *P.*

yezoensis'ten taurinin geri kazanılması sırasında kullanılan geleneksel ekstraksiyon yöntemine alternatif olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

2.2.2 Enzim destekli ekstraksiyon

Makroalgler selüloz, galaktanlar, ksilanlar, fukoidan, laminarin, aljinatlar, karagenanlar ve florid nişastası dahil olmak üzere çeşitli polisakkarit türleri açısından zengindir. Bu polisakkaritler, makroalg proteinlerinin mevcudiyetini etkileyebilir ve protein ekstraksiyon verimliliğini azaltabilirler. Bu durumun makroalg proteinlerinin endüstriyel kullanımını sınırlandırdığı bilinmektedir. Enzim destekli ekstraksiyon (EDE), proteinleri ve/veya bunların hidrolizatlarını algden çıkarmak için tercih edilen bir yöntemdir (Gordalina vd., 2021). Makroalg proteinlerinin ekstraksiyonu ve çözünürlüğünü iyileştirmek için alternatif bir yöntem olarak hücre duvarı polisakkaritlerini parçalayan enzimler kullanılabilir. Örneğin karbohidraz enzimler, protein verimini arttırmak için protein ekstraksiyonundan önce hücre duvarının parçalanması amacıyla uygulanabilir. Selülozik hücre duvarını bozmaya yönelik bu işlemler, makroalg proteinlerini ve diğer hücre bileşenlerini daha erişilebilir hale getirmeye yardımcı olmaktadır (Barbarino ve Lourenço, 2005; Bleakley ve Hayes, 2017; Fleurence, 1999).

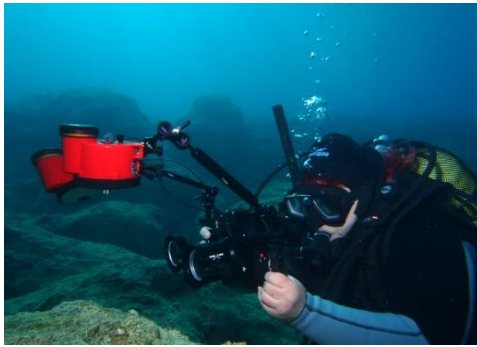
Sert hücre duvarı ile mücadele yöntemi olarak kırmızı makroalg türleri *Chondrus crispus*, *Gracilaria verrucosa* ve *Palmira palmata*'dan protein ekstraksiyonlarında birkaç karbohidraz enzim (κ -karragenaz, β -agaraz, ksilanaz, selülaz) kullanılmıştır. Bu ekstraksiyonda *Chondrus crispus*'un karagenaz ve selülaz ile hidrolizi, protein verimini enzimsiz işleme göre on kat artırırken, *P. palmata*'da en yüksek verimin ksilanaz ile elde edildiği gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, *P. palmata*'nın ksilanaz ve selülaz ile hidrolizinin, mekanik ekstraksiyona kıyasla fikoeritrin pigment proteininde on kat artış sağladığı rapor edilmiştir (Bleakley ve Hayes, 2017).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 *Laurencia pyramidalis*'in Toplanması ve Alg Örneklerinin Hazırlanması

Kırmızı makroalg *Laurencia pyramidalis*, 28.06.2019 tarihinde Çanakkale'nin 40°19'1.80"K 26°13'6.21"D koordinatlarında toplanmıştır. *Laurencia pyramidalis* makroalginin toplanması, 119O149 numaralı TÜBİTAK projeleri dahilinde, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü ve T.C. Orman Su İşleri Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünden gerekli izinler alınarak yapılmıştır.

Makroalglerin tanımlanması için çalışmalar Olympus SZ×16 marka stereo zoom ve B×51 model binoküler ışık mikroskopuyla yapılmıştır. Toplanmış olan makroalgler su altında plankton bezleri ile yapılmış olan (70×50 cm) ağız kısmı büzgü şeklinde torbalara yerleştirilmiştir. Şekil 3.1'de 119O149 nolu ve "Türkiye Denizlerinden Toplanan Bazı Makroalg Örneklerinin Alternatif Protein Kaynağı Olarak Değerlendirilmesi: Biyoaktif Peptit Eldesi, Biyoaktif ve Teknofonksiyonel Özelliklerinin Araştırılması, Enkapsulasyonu ve Stabilitate Çalışmaları" başlık TÜBİTAK projesinde yer alan Dr. Emine Şükran Okudan aracılığı ile makroalg örnekleri toplanmış ve fotoğraflarda gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Makroalg toplama çalışmalarından görüntüler.

Toplanan makroalg örneklerinin analizine başlanmadan önce epifitlerinden, içlerinde bulunma ihtimali olan kaya, kum ve çamur benzeri maddelerden arındırılması için ayıklanarak tatlı su ile yıkanma işlemi tamamlanmıştır. Ayıklanmış olan makroalg örnekleri, doğrudan güneş ışığına maruz kalmadan gölge olan bir ortamda, yaklaşık 30 °C sıcaklıkta kurutulmuştur. Aksaray Üniversitesi Gıda Mühendisliği laboratuvarına transfer edilen kuru makroalgler, burada laboratuvar tipinde bir

öğütücü (Waring 8011 Eb Blender, Cole-Parmer Instrument Company, Illinois, ABD) kullanılıp öğütme işlemi tamamlanıp, 500 µm mesh elek ile elenerek, eleğin alt kısmında kalmış olan partikül boyutu <500 µm toz formda partiküller güneşe veya oksijene maruz kalmadan uygun koşullarda ambalajlanıp analiz edilene dek -20 °C’de saklanmıştır (Rouxel vd., 2001). Şekil 3.2’de partikül çapı <500 µm öğütülmüş *Laurencia pyramidalis* makroalgi sunulmuştur.



Şekil 3.2. Partikül çapı <500 µm öğütülmüş *Laurencia pyramidalis*.

3.2 Kimyasal Kompozisyonun Belirlenmesi

Laurencia pyramidalis makroalginin kimyasal kompozisyonu ilgili AOAC (Association of Official Analytical Chemists) yöntemleri ile saptanmıştır. Algin nem içeriği (AOAC 925.10, 1990), % kül miktarı (AOAC 925.03, 1990), yağ miktarı, Soxhlet ekstraksiyonu yöntemi (AOAC 954.02, 1990) ve ham lif içeriği (AOAC 978.10) ilgili AOAC metotları kullanılarak belirlenmiştir. Protein içeriği, Kjeldahl metodu (AOAC 950.48, 1990) ile belirlenmiştir ve 6,25 çevirme faktörü ile protein miktarı belirlenmiştir. Karbonhidrat içeriği; ham lif, yağ, kül, nem, protein içeriği toplamalarının 100’den çıkarılmasıyla hesaplanmıştır. Tüm ölçüm işlemleri 3 kez tekrar edilerek yapılmıştır.

3.3 Protein Çözünürlüğü ve Zeta (ζ) Potansiyel Ölçümü

Laurencia pyramidalis’in pH’sı 2-13 arası değişen değerlerde protein çözünürlüğündeki değişimi belirlemek amacıyla Morr vd. (1985)’nin metodu kullanılmıştır. Farklı pH’larda (pH 2’den 13’e) hazırlanan çözeltiler 4100 rpm ile 15 °C’de 10 dakika süre boyunca santrifüj edildikten sonra, üst fazın protein içeriği Lowry metodu (Lowry, 1951) ile belirlenmiştir. Örneklerin % protein miktarı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Eşitlik 3.1):

$$\% \text{Protein çözünürlüğü} = \frac{\text{Supernatantın protein konsantrasyonu (mg/ml)} \times 50}{\text{Örneğin ağırlığı (mg)} \times \frac{\text{Örneğin protein miktarı (\%)}}{100}} \times 100 \quad (3.1)$$

L. pyramidalis makroalginin pH 2’den pH 13’e kadar hazırlanmış olan çözeltilerinin zeta potansiyellerinin ölçülmesi zeta potansiyelini ölçen bir cihaz (Zetasizer NanoZS90, Malvern Instruments, İngiltere) ile yapılmıştır.

3.4 Proteinlerin Ultrases Destekli Enzimatik Ekstraksiyonu

Laurencia pyramidalis’den protein ekstraksiyonu için ultrases uygulamasıyla karbhidraz enziminin ilavesi ile oluşan bir kombinasyon uygulanmıştır. İlk olarak 0,5 g makroalg örneğine 50 ml sitrat tampon çözeltisi (0,1 M, pH 4,5) ilave edilmiştir. Daha sonra karışım, ultrases cihazı (Sonopuls HD 2200 ultrasonic homogeniser, Bandelin Electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Almanya) kullanılmak suretiyle deney tasarımıdaki süreler doğrultusunda %65 şiddet ile 53 kHz frekansta ses dalgalarına maruz bırakılmıştır. Ultrases sonrası makroalglere, deney prosedüründeki enzim/substrat (E/S) oranını karşılayacak biçimde, hemiselülaz ilavesi yapılmıştır. Ultrases uygulanıp enzimin ilavesi yapılmış örnekler, 35 °C’deki çalkalamalı su banyosu içinde (N-Biotek-303, Biotek Co., Ltd. Korea) 75 rpm çalkalama hızında ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Sürenin bitişinde enzim inaktivasyonunu gerçekleştirebilmek için örnekler 85 °C’da su banyosunda 10 dakika süre ile bekletilmiştir. Enzim inaktivasyonu sonrası, ekstrakte olan protein miktarını arttırmak amaçlı, karışımın pH’sı, protein çözünürlüğü deneyi sonucu belirlenen, algin protein çözünürlüğünün yüksek olduğu pH değerine ayarlanmıştır. Sonraki işlemde örnekler, 35 °C sıcaklıktaki çalkalamalı su banyosunda belirli bir süre tutulup, ikinci ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyondan sonra örnekler 4100 rpm’de 4 °C sıcaklıkta 15 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonucu elde edilen üst faz alınıp, karanlık bir ortamda -20 °C’de deneylere dek saklanmıştır.

3.4.1 Protein ekstraktlarının protein içeriğinin ve ekstraksiyon veriminin belirlenmesi

Ekstraksiyon sonucu elde edilmiş proteinlerin ekstraktlarının protein içeriğinin belirlenmesi amaçlı Barbarino ve Lourenço (2005)’nın uyguladığı modifiye edilmiş Lowry metodu (Lowry, 1951) kullanılmıştır. Ekstraktlardaki protein içeriği kuru ağırlık bazında mg protein/g örnek olarak belirlenmiştir.

Ekstraksiyonun veriminin hesaplanması için Yüçetepe vd. (2018)'nin çalışmalarında kullandığı aşağıdaki ekstraksiyon verimi eşitliği kullanılmıştır (Eşitlik 3.2):

$$\text{Ekstraksiyon verimi, \%} = \frac{\text{Ekstraksiyondan sonra ekstraktın protein miktarı} \times \text{ekstraksiyondan sonra ekstraktın miktarı}}{\text{Ekstraksiyondan önce makroalgin protein miktarı} \times \text{Ekstraksiyondan önce makroalg miktarı}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.4.2 Protein Ekstraktlarının Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Örneklerde bulunan toplam fenolik maddenin içeriği Toor ve Savage (2006)'un yöntemi ile bulunmuştur. Absorbas ölçümleri, UV-VIS spektrofotometre (Scilogex Sci-UV1000 Spectrophotometer, Scilogex, ABD) aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar kuru ağırlık bazında mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g örnek olarak belirtilmiştir (Toor ve Savage, 2006).

3.5 Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

3.5.1 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl radikal yakalama (DPPH) metodu

Protein ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amacıyla DPPH yöntemi uygulanmıştır. Absorbas ölçümleri, UV-VIS spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, kuru ağırlık bazında Trolox eşdeğeri (TE)/g olarak belirlenmiştir (Kumaran, 2006).

3.5.2 Bakır (II) iyonu indirgenme antioksidan kapasitesi (CUPRAC) metodu

Protein ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amacı ile CUPRAC yöntemi uygulanmıştır. Absorbas ölçümleri, UV-VIS spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, kuru ağırlıkta Trolox eşdeğeri (TE)/g cinsinden belirlenmiştir (Apak vd., 2004).

3.6 Tekno-Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi

Optimum ekstraksiyonun koşulları ile üretilen protein ekstraktlarının su ve yağ tutma kapasiteleri, emülsiyon aktivite ve stabilitesi, köpürme kapasite ve stabilitesi belirlenmiştir.

3.6.1 Su tutma kapasitesi

Örneklerde su tutma kapasiteleri Kumar vd. (2014)'nın yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Örneklerde su tutma kapasitesi aşağıda bulunan eşitlik ile belirlenmiştir (Eşitlik 3.3):

$$\text{Su Tutma Kapasitesi (\%)} = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100 \quad (3.3)$$

Bu denklemde; W_0 : Protein ekstrakt ağırlığı, W_1 : Protein ekstrakt ve tüp ağırlık toplamı, W_2 : Çökelti ve tüp ağırlık toplamı.

3.6.2 Yağ tutma kapasitesi

Örneklerin yağ tutma kapasiteleri (g yağ/g protein ekstraktı) Kumar vd. (2014)'ın yöntemi ile yapılmıştır. Örneklerde yağ tutma kapasiteleri aşağıda bulunan eşitliğe göre belirlenmiştir (Eşitlik 3.4):

$$\text{Yağ Tutma Kapasitesi (\%)} = \frac{O_2 - O_1}{O_0} \times 100 \quad (3.4)$$

Bu denklemde; O_0 : Protein ekstrakt ağırlıkları, O_1 : Protein ekstrakt ve tüp ağırlığının toplamı, O_2 : Çökelti ve tüp ağırlık toplamı.

3.6.3 Emülsiyon aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi

Protein ekstraktlarının emülsiyon aktivite ve stabilitesini belirlemek için Tan vd. (2014)'nin metodu kullanılmıştır. Emülsiyon aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi aşağıdaki eşitlikler kullanılarak belirlenmiştir (Eşitlik 3.5 ve Eşitlik 3.6):

$$\text{Emülsiyon aktivitesi (\%)} = \frac{\text{Emülsiyon olmuş tabakanın yüksekliği}}{\text{Tüp içeriğinin yüksekliği}} \times 100 \quad (3.5)$$

$$\text{Emülsiyon stabilitesi (\%)} = \frac{\text{Kalan emülsiyon olmuş tabakanın yüksekliği}}{\text{Orijinal emülsiyon olmuş tabakanın yüksekliği}} \times 100 \quad (3.6)$$

3.6.4 Köpürme kapasitesi ve köpürme stabilitesi

Proteinlerin ekstraktlarının köpürme kapasite ve köpürme stabilitesinin belirlenmesi amaçlı Jarpa-parra vd. (2014)'ın metodu kullanılmıştır. Köpürme kapasitesi ve stabilitesi aşağıdaki eşitlikler kullanılarak belirlenmiştir (Eşitlik 3.7 ve Eşitlik 3.8):

$$\text{Köpürme kapasitesi (\%)} = \frac{\text{Çırpma işleminden sonra hacim (ml)} - \text{Çırpma işleminden önce hacim (ml)}}{\text{Çırpma işleminden önce hacim (ml)}} \times 100 \quad (3.7)$$

$$\text{Köpürme stabilitesi (\%)} = \frac{\text{Bekletme işleminden sonra hacim (ml)} - \text{Çırpma işleminden önce hacim (ml)}}{\text{Çırpma işleminden önce hacim (ml)}} \times 100 \quad (3.8)$$

3.7 Sodyum Dodesilsülfat Poliakrilamid Jel Elektroferez (SDS-PAGE) ile Tanımlama Çalışmaları

Optimum koşullarda ekstrakte edilmiş olan protein ekstraktlarının sodyum dodesilsülfat poliakrilamid jel elektroferez (Biorad, Hercules, CA, ABD) ile %12'lik ayırma jeli, %5'lik istifleme jeli (25 mM Tris-HCl, pH 8.3, 0,18 M glisin ve %0,1 SDS), 80 Volt koşullarında tanımlaması çalışmaları yapılmıştır. Yapılan bu çalışma için 10-250 kDa molekül ağırlığında protein markerları kullanılmıştır. Yer değişiminin devamında, makroalg protein ekstraktlarının protein bantları coomassie boyasıyla belirlenmiştir.

3.8 Deney Tasarımı ve İstatistiksel Analiz

Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu Yanıt Yüzey Metodolojisi (Response surface methodology, RSM) ile gerçekleştirilmiştir. Optimizasyonu için 2 bağımsız değişkenin (ultrases uygulama zamanı ve enzim/substrat oranı) 5 seviyede ($-\alpha$, -1, 0, 1, $+\alpha$) etkisi Merkezi Kompozit Dizayn (Central Composite Dizayn, CCD) kullanılarak araştırılmıştır. Sunulan tez çalışmasında, bağımsız değişkenler olarak, X_1 ve X_2 olarak kodlanan ultrases uygulama zamanı (1-6 dakika) ve enzim/substrat oranı (1,0 - 2,0) seçilmiştir. Deney tasarımı 4 faktöriyel nokta, 5 merkezi nokta ve 4 eksen noktası dahil toplam 13 koşul (run) ile yapılmıştır. Ekstraksiyonun koşulları kodlanmış değişkenler ile normalize edilmiştir (Tablo 3.1). Yanıt fonksiyonları (Y) kuru ağırlıkta ekstraktlarda bulunan protein miktarı (mg protein/g örnek), toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/g örnek) ve antioksidan aktivitedir (mg TE/g örnek). Yanıt ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemek için ikinci dereceden polinomyal modeller kullanılmıştır (Tekin vd., 2015). İki değişkenli merkezi kompozit dizayn için kullanılan matematiksel model Eşitlik 3.9'da verilmiştir:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \epsilon \quad (3.9)$$

İkinci dereceden polinomsal modelin regresyon katsayısı olan β_0 sabit terim, β_i lineer etki, β_{ii} kuadratik etki, β_{ij} interaksiyon etki olarak tanımlanmaktadır. Modelin uyumu, regresyon katsayıları ve istatistiksel önem varyans analizi (ANOVA) ile

değerlendirilmiştir. Yanıtlar ve bağımsız değişkenler arasında olan ilişkiyi görselleştirme amacıyla polinomsal regresyon eşitliklerin yüzey yanıtları ve kontur plotları ve hedef yanıtlar için optimum şartlar Design Expert 7.1 yazılımının (Stat-Ease, Inc., MN, ABD) deneme sürümü ile elde edilmiştir. Sonuçların $p=0,05$ istatistiksel önem seviyesinde olduğu test edilmiştir. Model uyumluluğu, model analizi, belirleme katsayısı (R^2) ve model zayıflığı kullanılmak suretiyle belirlenmiştir. Araştırılmış bütün yanıtlar üzerinde bir tek parametrenin ve/veya çoklu parametrelerde interaksiyon etkisini tanımlanması amaçlı matematiksel modelleri elde edilmiştir. Çizelge 3.1’de merkezi kompozit dizayn için bağımsız değişkenlerin gerçek ve kodlanmış seviyeleri sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Merkezi kompozit dizayn için bağımsız değişkenlerin gerçek ve kodlanmış seviyeleri.

Bağımsız değişkenler	Kodlanmış seviyeler				
x_1 ; Ultrases uygulama zamanı (dakika)	$-\alpha$	-1	0	1	$+\alpha$
x_2 ; Enzim/substrat oranı	-0,04	1,00	3,50	6,00	7,04

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Kimyasal Kompozisyonu

Sunulan bu tez çalışmasında *Laurencia pyramidalis* makroalginin kimyasal kompozisyonu araştırılmıştır. Çizelge 4.1’de sonuçlar sunulmuştur.

Çizelge 4.1. *Laurencia pyramidalis* makroalginin kimyasal kompozisyonu.

Bileşen	Yaş ağırlıkta, %	Kuru ağırlıkta, %
Protein	12,24±0,24	13,09±0,24
Yağ	0,74±0,00	0,79±0,00
Ham lif	14,23±0,09	15,22±0,09
Kül	24,71±1,37	26,43±1,37
Nem	6,50±0,50	-
Karbonhidrat	41,58±0,22	44,47±0,22

Analiz sonuçlarına göre, *Laurencia pyramidalis*’in nem içeriği %6,50±0,50, protein içeriği %12,24±0,24, yağ içeriği %0,74±0,00, kül içeriği %24,71±1,37, ham lif %14,23±0,09, karbonhidrat içeriği %41,58±0,22’dir. Kuru ağırlıkta ise protein içeriği %13,09±0,24, yağ içeriği %0,79±0,00, karbonhidrat içeriği 44,47±0,22, kül içeriği %26,43±1,37 ve ham lif içeriği ise %15,22±0,09 olarak bulunmuştur. Bildiğimiz kadarıyla literatürde bu makroalgin kimyasal kompozisyonu ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, elde edilen bulgular diğer kırmızı makroalglerin bulguları ile kıyaslanmıştır. Örneğin, Gressler vd. (2010) yaptıkları çalışmada, Rhodophyta filumuna ait dört makroalgin (*Laurencia filiformis*, *Laurencia intricata*, *Gracilaria domingensis* ve *G. birdiae*) toplam lipid içeriğinin kuru ağırlıkta %1,1 ila %6,2 arasında değiştiğini, kül içeriğinin ise %22,5-%38,4 aralığında olduğunu bildirmiştir. Bu değerler *Laurencia pyramidalis* makroalgi ile karşılaştırıldığında verilerin birbirine yakın olduğu söylenebilir. Robledo ve Pelegrin (1997)’in çalışmasında *Codium isthmocladum*’ın ham lif içeriğinin %1,01 ile %9,07 arasında değiştiği bildirilmiştir. Sunulan çalışmada *Laurencia pyramidalis* için protein içeriği kuru ağırlıkta %13,09±0,24, olarak bulunmuştur. Diğer makroalgler ile ilgili yapılmış çalışmalar ile kıyaslandığında, *Eucheuma isiforme* makroalginin %12,10 ve *Codium isthmocladum*’un %3,5 protein içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir (Robledo ve Pelegrin, 1997).

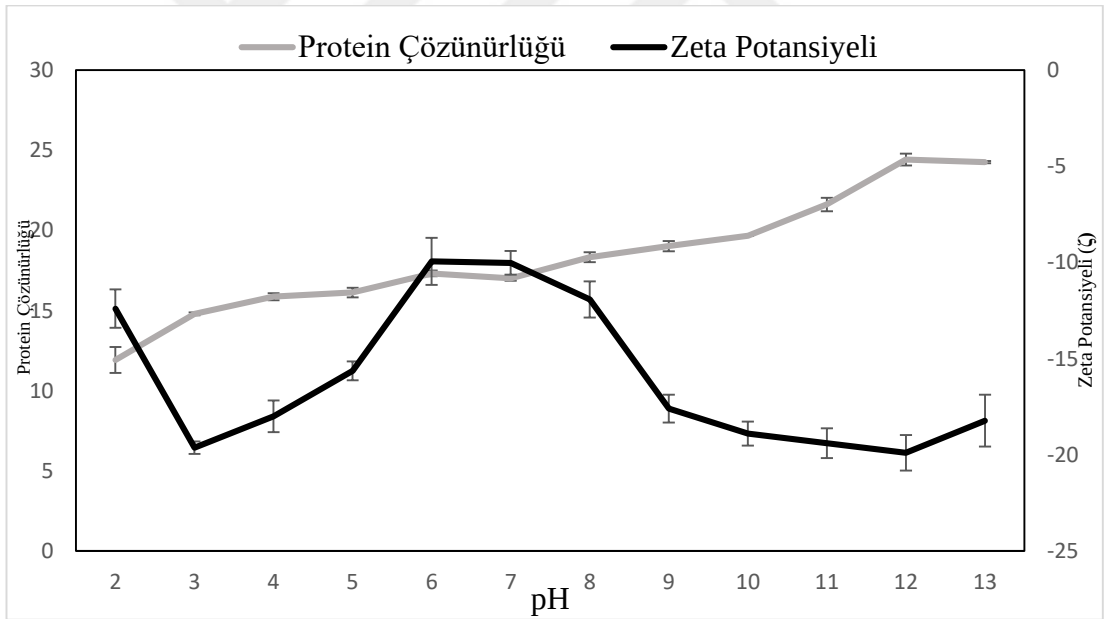
Sunulan bu tez çalışmasında *Laurencia pyramidalis* makroalginde ham lif içeriği kuru ağırlıkta $15,21 \pm 0,09$ olarak bulunmuştur. Chan ve Matanjun (2017) yaptığı çalışmada kırmızı bir alg olan *G. changii*'de yüksek ($64,74 \pm 0,82$) oranda ham lif bulunduğunu rapor etmiştir. Yine makroalgler ile ilgili yapılan başka bir çalışmada, Lohrmann vd. (2004) *Chondrus crispus* makroalginde ham lif oranını $33,6$ ve *Porphyra tenera* makroalginde ise 50 olduğunu bildirmiştir. Benzer olarak, Ordenez vd. (2010) *Mastocarpus stellatus* ve *Gigartina pistillata*'ın ham lif içeriğini sırasıyla $29,3$ ile $37,4$ olarak belirlemiştir.

Sunulan çalışmada *Laurencia pyramidalis* makroalginde kül içeriği kuru ağırlıkta $26,42 \pm 1,37$ olarak bulunmuştur. Benzer şekilde, Ashoush vd. (2017)'ın çalışmasında, kırmızı bir makroalg olan *Gelidium* sp'nin kül içeriği $26,45 \pm 0,74$ olarak bulunurken, Ordenez vd. (2010) iki kırmızı makroalg olan *Mastocarpus stellatus* ve *Gigartina pistillata* ile yaptığı çalışmada kül oranları sırasıyla $24,9$ ve $36,4$ olarak bulunmuştur. Benzer şekilde, Gressler vd. (2010) *Laurencia filiformis* ve *L. intricata* kırmızı makroalglerinde kül içeriğini incelemiştir. *L. filiformis*, için kül içeriği $38,4 \pm 0,1$, *L. intricata* için ise $33,5 \pm 1,0$ olarak rapor edilmiştir. Jeliani vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen başka bir çalışmada *Hypnea flagelliformis* kırmızı makroalginin kül içeriği 36 olarak bulunmuştur.

4.2 Protein Çözünürlüğü ve Zeta (ζ) Potansiyeli

Laurencia pyramidalis'in farklı pH aralıklarında hazırlanan çözeltilerinde, pH'ya bağlı değişen yüzey yüklerin değerlerini belirlemek amacıyla zeta potansiyel ölçümleri ve protein çözünürlükleri araştırılmıştır. Sunulan çalışmada, *Laurencia pyramidalis*'in en düşük protein çözünürlüğü değeri pH 2'de $11,91 \pm 0,81$ iken, en yüksek protein çözünürlüğü değeri pH 12'de $24,41 \pm 0,37$ olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.1). Bildiğimiz kadarıyla, *Laurencia pyramidalis* makroalginin protein çözünürlüğü ile ilgili literatürde çalışma olmadığından farklı makroalglerle ve diğer bitkisel kaynaklarla ilgili yapılmış çalışmalar kıyaslanmıştır. Diğer çalışmalar ile kıyaslandığında, *Laurencia pyramidalis* makroalginin protein çözünürlüğünün diğer makroalglerle benzer veya yüksek oranlarda protein çözünürlüğü elde edilen çalışmalar saptanmıştır. Bu farklılıklara sebep olarak; yapıda bulunan amino asitlerin hidrofobik ve hidrofilik gruplarının dağılımı, sıcaklık, pH etkisi, iyonik kuvvet ve tuz konsantrasyonu gibi parametrelerdeki farklılıklar gösterilebilir (Akyüz ve Bilek, 2018). Örneğin, Abdollahi vd. (2019) pH 8-12 aralıklarında kahverengi

bir makroalg olan *H. elongata*'dan izole edilen proteinin protein çözünürlüğü %65-96 arasında değişmiştir. Kumar vd. (2014) ise kırmızı bir makroalg olan *Kappahycus alvarezii* ile yaptıkları çalışmada, pH 12'de maksimum protein çözünürlüğünü %58 olarak belirlemişlerdir. Gressler vd. (2010) ise *Laurencia filiformis*, *Laurencia intricata* kırmızı makroalglerinin protein çözünürlüğünü araştırdıkları çalışmalarında, *Laurencia filiformis* için $18,3 \pm 0,4$, *Laurencia intricata* için $4,6 \pm 0,0$ olarak bulmuşlardır. Diğer taraftan, López vd. (1991) tarafından yapılan çalışmada, iki farklı nohut protein izolatının çözünürlük değerleri pH 7'de sırasıyla %7,5 ve %60,4 olarak rapor edilmiştir. Elde edilen bu değerlerin ticari soya protein izolatı çözünürlüğünden (%21,2) daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Wang vd. (2015) ise pirinç proteini ile yaptığı çalışmada, izolatlara alkali muamelesini takiben dondurma ve öğütme işlemleri uygulayarak çözünürlük değerinin 42 kat arttığını saptamıştır. Şekil 4.1'de *Laurencia pyramidalis*'in pH'sı 2-13 aralığında değişen pH değerlerinde % protein çözünürlüğü ve zeta potansiyeli (mV) değerleri sunulmuştur.



Şekil 4.1. *Laurencia pyramidalis*'in pH'sı 2-13 aralığında değişen pH değerlerinde % protein çözünürlüğü ve zeta potansiyeli (mV) değerleri.

Laurencia pyramidalis'in zeta potansiyel değerleri bütün pH aralıklarında negatif değere sahiptir (Şekil 4.1). Buna sebep olarak hücre duvarında bulunan anyonik polisakkaritler gösterilebilir (Kamiya vd., 2008). *Laurencia pyramidalis* için en yüksek zeta potansiyeli pH 6'da $-9,94 \pm 1,22$ mV iken, pH 3'te ise değeri $-19,63 \pm 0,33$ mV olarak belirlenmiştir.

Bildiğimiz kadarıyla, literatürde *Laurencia pyramidalis* makroalginin zeta potansiyeli ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, diğer makroalgler veya bitkisel kaynaklar ile kıyaslamalar yapılmıştır. Bu kıyaslamalarda *Laurencia pyramidalis* makroalgine benzer sonuçlar bildirildiği görülmüştür. Örneğin, Schilp vd. (2009) çalışmasında yeşil bir makroalg olan *Ulva linza* için zeta potansiyeli -19,31 (mV) olarak bildirmiştir. Zeta potansiyeli değerleri; pH değerleri, kullanılan çözeltilerin iyonik mukavemetleri, ölçüm ve numune hazırlama yöntemleri gibi parametrelere bağlı olarak değişiklik gösterilebilmektedir (Kamiya vd., 2008; Patil vd., 2007).

4.3 Modelin Yeterliliği

İkinci dereceden polinomiyal modelde varyans analizleri ve R^2 değeri Çizelge 4.1, Çizelge 4.2, Çizelge 4.3'te verilmiştir. Protein içeriği, TFMM ve CUPRAC ile antioksidan aktivitenin tayin edilmesi için R^2 değerleri sırası ile 0,87, 0,66, 0,61'dir. Jouki vd. (2014), modelin uygun olması için R^2 değerinin en az 0,80 olmasının gerekli olduğunu bildirmiştir. İstatistiksel analiz sonucunda, CUPRAC, antioksidan aktivite ve TFMM harici, protein içeriği için polinom modellerin değişkenler arasındaki gerçek ilişkiyi göstermeye uygun olduğu anlaşılmaktadır. Varyasyon katsayı (CV) değeri protein içeriği, TFMM ve CUPRAC ile antioksidan aktivite için sırası ile %19,01, %39,61 ve %19,71'dir. Modelin zayıflığı (lack of fit) p değerleri protein içerikleri için 0,9697, TFMM için 0,9952 ve CUPRAC için 0,5916'dır. Modelin zayıflığı bütün değerlerde önemsiz olduğu ($p>0,05$) anlaşılmaktadır. Sonuçta, bu çalışma kapsamında protein içeriği için elde edilmiş olan modelde ($p=0,0054$), *Laurencia pyramidalis*'ten protein ekstraksiyonu dahilinde kullanılmış olan ekstraksiyon şartlarının optimizasyon için doğru olabileceği öngörülmektedir.

4.4 Protein İçeriği ve Ekstraksiyon Verimi

Sunulan bu tez çalışmasında, *Laurencia pyramidalis* makroalginin ultrases destekli enzimatik ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, ultrases uygulama süresinin 3,5 dak ve E/S oranının 2,21 olduğu ekstraksiyon koşullarında protein ekstraktlarında en yüksek (228,878 mg protein/g, yüzde ifade ile %22,89) protein içerik; ultrases uygulama süresinin 3,5 dak ve E/S oranının 0,79 olduğu koşullarda ise en düşük (48,82 mg protein/g, %4,88) protein içerik elde edilmiştir (Çizelge 4.1). Aynı ultrases sürelerinde oluşan bu değer farklılıklarının sebebi olarak

enzim kullanım oranlarındaki farklılık gösterilebilir. Bu bulgular, diğer kırmızı makroalgler ile ilgili yapılmış çalışmalardaki bulgular ile kıyaslandığında, örneğin Glasson vd. (2022) *Ulva ohnoi*'den elde edilen protein ekstraktlarının protein içeriğini kuru ağırlıkta $22,2 \pm 0,4$ ile $39,5 \pm 1,9$ arasında bildirmiştir. Benzer şekilde, Gomes vd. (2018) *Ascophyllum nodosum*'un protein içeriğini %7 ve *Palmira palmata* için %17,2 bildirirken, Kumar vd. (2014) *Kappahycus alvarezii* makroalginden protein ekstraktlarının protein içeriğini $62,3 \pm 1,62$ olarak bildirmiştir. Şengör (2001) çalışmasında protein içeriklerini, *Palmira palmata* makroalgi için $18,3 \pm 5,9$, *Ulva pertusa* için %17,5, *Ulva fassitica* için %21,13, *Codium fragile* için %15,6 ve *Glacilaria changii* için $6,9 \pm 0,1$ olarak rapor etmiştir.

Naseri vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada kırmızı bir makroalg olan *Palmira palmata*'da enzim destekli ekstraksiyon gerçekleştirmiştir. Bu ekstraksiyon sonucunda enzim desteği sayesinde *Palmira palmata*'dan %90 oranında protein ekstrakte etmenin mümkün olduğunu bildirmiştir. Gora vd. (2018) ise çalışmasında *Chondrus crispus* ve *Porphyra tenera* kırmızı makroalglerinde protein içeriğini sırasıyla %20,9-29,8 g/100 g olarak bildirmiştir. Benzer şekilde; Barbarino ve Lourenço (2005) *Palmira palmata* ile yaptığı protein ekstraksiyonunda protein içeriğini $11,57 \pm 0,08$ g/100 g olarak bildirmiştir. Bu çalışmalar *Laurencia pyramidalis* makroalgiyle karşılaştırıldığında, *Laurencia pyramidalis*'in benzer oranlarda protein içerdiği söylenebilir. Çizelge 4.2'de doğal ve kodlanmış ekstraksiyon koşullarında deneysel olarak elde edilen yanıtların değerleri, Çizelge 4.3'de ikinci dereceden polinomyal modelin varyans analizi sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Doğal ve kodlanmış ekstraksiyon şartlarıyla Box-Behnken deney tasarımı ve deneysel olarak elde edilen yanıtların değerleri.

Run	Bağımsız değişkenler				Yanıtlar		
	A: Ultrases uygulama zamanı, dak	Kod	B: Enzim/Substrat	Kod	PM (mg protein/g)	TFMM (mg GAE/g)	AOA _{CUPRAC} (mg TE/g)
1	3,50	0	1,50	0	98,74	353,45	189,37
2	6,00	1	1,00	-1	50,25	204,48	150,34
3	3,50	0	1,50	0	103,33	316,92	193,84
4	3,50	0	0,79	-α	48,82	169,29	121,14
5	3,50	0	1,50	0	147,75	177,06	68,72
6	7,04	+α	1,50	0	165,54	25,70	58,78
7	3,50	0	1,50	0	179,93	290,47	145,17
8	3,50	0	2,21	+α	228,88	361,49	206,38
9	3,50	0	1,50	0	165,62	248,03	117,63
10	6,00	1	2,00	1	215,43	339,55	188,40
11	1,00	-1	2,00	1	214,43	282,85	57,556
12	-0,04	-α	1,50	0	193,04	225,20	43,44
13	1,00	-1	1,00	-1	133,01	184,52	65,27

PM: Protein miktarı, TFMM: Toplam fenolik madde miktarı, AOA_{CUPRAC}: CUPRAC yöntemiyle antioksidan aktivite. Sonuçlar kuru ağırlıkta verilmiştir.

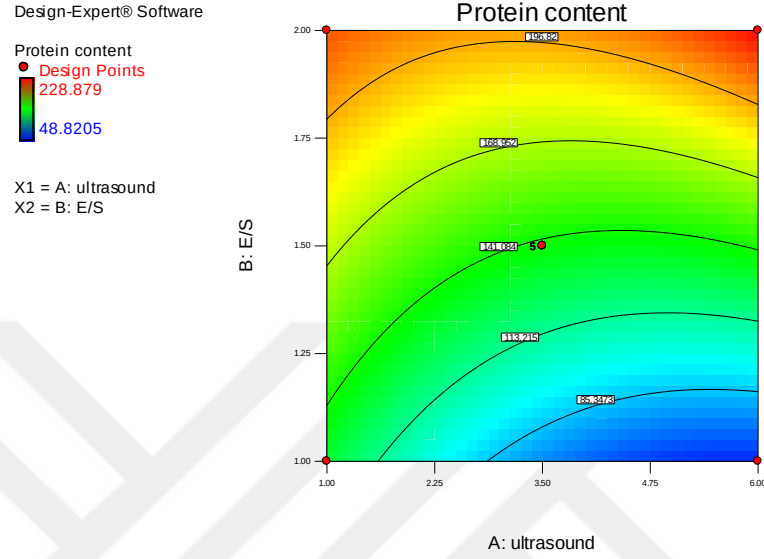
Çizelge 4.3. İkinci dereceden polinomyal modelin varyans analizi (ANOVA).

Kaynak	Kareler toplamı	DF	Ortalama kare	F - değeri	p - değeri
Protein miktarı					
Model	37514,71	5	7501,94	9,28	0,0054*
Doğrusal β ₁ β ₂	1819,80 31405,31	1 1	1819,80 31405,31	2,25 38,85	0,1772 0,0004*
Kaudratik β ₁₁ β ₂₂	2422,81 16,91	1 1	2422,81 16,91	3,00 0,021	0,1270 0,8891
İnteraksiyon β ₁₂	1753,94	1	1753,94	2,17	0,1842
Artan	5658,87	7	808,41	-	-
Modelin uyumsuzluğu	305,02	3	101,67	0,076	0,9697
Saf hata	5353,86	4	1338,46	-	-
Toplam	43173,58	12	-	-	-
R ² =0,8689; C. V.(%)=19,01					

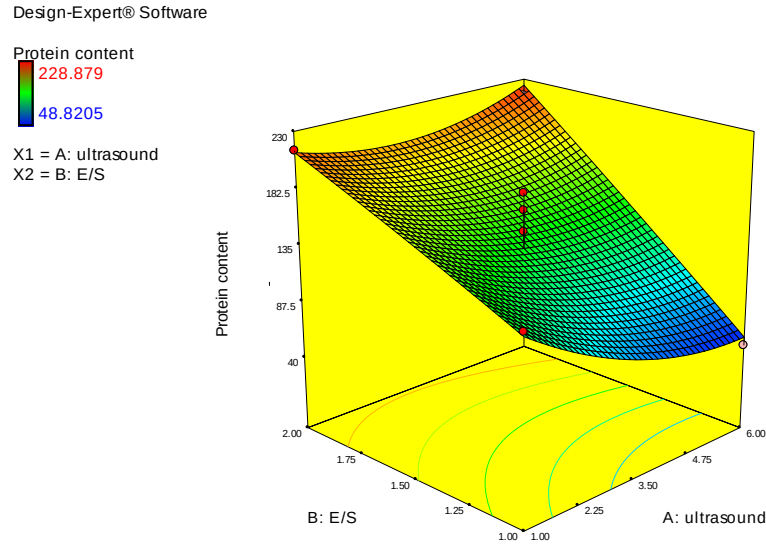
*p≥0,05 düzeyinden önemli.

Ekstraktların protein miktarı üzerine E/S ve ultrasesin uygulanma süresinde interaksiyon etkileri Şekil 4.2 ve Şekil 4.3’de görülmektedir. Bu durumda, ortalama

olarak 2,25 dak ile 6 dak arasında ultrases uygulama sürelerinde ve E/S oranının 1,00 ila 1,25 olduğu aralıkta en düşük protein içeriği elde edilmişken, tüm ultrases uygulama sürelerinde ve E/S'nin 1,75 ila 2,00 olduğu ekstraksiyon koşullarında en yüksek protein içeriği elde edilmiştir (Şekil 4.2-4.3).



Şekil 4.1. Ekstraktların protein miktarı üzerine E/S ve ultrases uygulama süresiyle arasında olan bağlantıyı gösteren 2D kontur plot grafiği.



Şekil 4.2. Ekstraktların protein miktarı üzerine E/S ve ultrases uygulama süresiyle arasında olan bağlantıyı gösteren 3D kontur plot grafiği.

Laurencia pyramidalis makroalgi için optimum noktada elde edilen protein ekstraktlarının ekstraksiyon verimi %81,73 olarak belirlenmiştir. Wang vd. (2015) ise

çalışmasında kırmızı bir makroalg olan *Porphyra yezoensis*'ten taurinin ultrases destekli ekstraksiyonunu gerçekleştirmiştir. Bu yöntemin diğer geleneksel katı-sıvı uygulamalarına kıyasla daha hızlı ve verimli bir yöntem olduğunu bildirmiştir. Fleurence (1999) tarafından yapılan çalışmada ise kırmızı makroalglerden olan *Chondrus crispus* makroalginde selüloz ve karragenaz, *Gracilaria verrucosa* makroalginde selüloz ve agaraz destekli enzimatik ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda enzim kullanımının ekstraksiyon verimini artırdığını bildirmiştir. Hmelkov vd. (2018) *Fucus evanescens* kahverengi makroalginde ultrases destekli ekstraksiyon yöntemini kullanmıştır. Bu çalışma sonucunda polisakkaritlerin diğer yöntemlere göre daha verimli olarak parçaladığını bildirmiştir. Wang vd. (2020) ise kırmızı bir makroalg olan *Porphyra yezoensis* selüloz kullanarak enzim destekli ekstraksiyon gerçekleştirmiştir. Bu enzim uygulaması ile ekstraksiyon veriminin arttığını bildirmiştir. Barbarino ve Lourenço (2005) *Palmira palmata* ile yaptığı protein ekstraksiyonunda polisakaridazların kullanımını ile %67 oranında bir verim elde ettiğini bildirmiştir. Ye vd. (2015) ise *Grateloupia livida* 'da gerçekleştirdiği protein ekstraksiyonunda, ekstraksiyon süresinin ve ekstraksiyon sıcaklığının polisakkaritleri parçalamada önemli bir faktör olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada, optimum koşullarda ekstraksiyon verimi ise %39,25 olarak rapor edilmiştir. Literatürdeki diğer çalışmalara kıyasla *Laurencia pyramidalis* makroalginin ekstraksiyon veriminin yüksek olduğu söylenebilir. Buna sebep olarak ekstraksiyon yöntemi, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı ve enzim kullanım oranları gösterilebilir (Fleurence, 1999; Hmelkov vd., 2018; Ye vd., 2015).

4.5 Toplam Fenolik Madde

Sunulan bu tez çalışmasında *Laurencia pyramidalis* makroalginde toplam fenolik 341,10 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g olarak bulunmuştur. Literatürde bu makroalgle ilgili çalışma bulunmayıp, diğer kırmızı makroalglerde yapılan çalışmalar mevcuttur. *Laurencia pyramidalis* makroalgi diğer çalışmalara kıyaslandığında yüksek oranlarda fenolik madde içerdiği tahmin edilmektedir. Çizelge 4.4'te ikinci dereceden polinomiyal modelin varyansın analizi sunulmuştur.

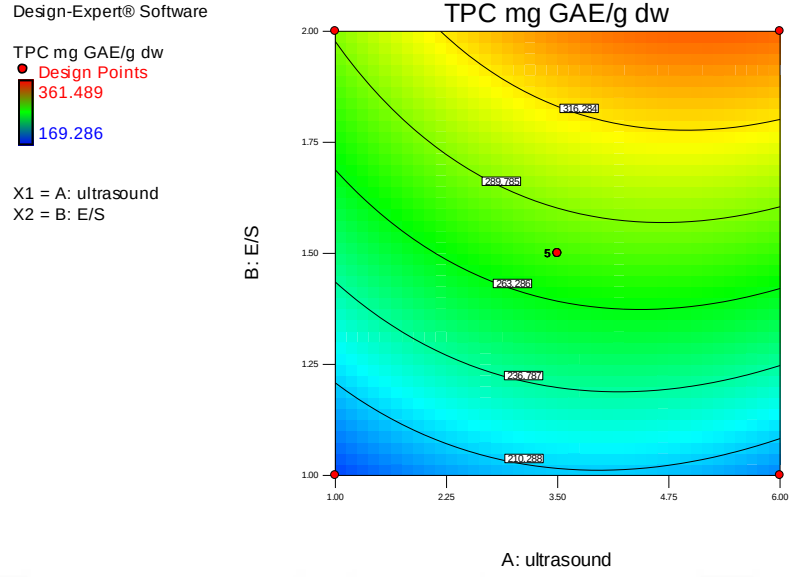
Çizelge 4.4. İkinci dereceden polinomyal modelin varyans analizi (ANOVA).

Kaynak	Kareler toplamı	DF	Ortalama kare	F - değeri	p - değeri
Toplam fenolik madde miktarı					
Model	36475,75	5	7295,15	2,72	0,1119
Doğrusal β_1 β_2	1923,24 31904,36	1 1	1923,24 31904,36	0,72 11,92	0,4247 0,0107*
Kaudratik β_{11} β_{22}	2209,53 259,16	1 1	2209,53 259,16	0,83 0,097	0,3938 0,7648
İnteraksiyon β_{12}	337,55	1	337,55	0,13	0,7330
Artan	18740,60	7	2677,23	-	-
Modelin uyumsuzluğu	293,14	3	97,71	0,021	0,9952
Saf hata	18447,46	4	4611,86	-	-
Toplam	55216,34	12	-	-	-
$R^2=0,6606$; C. V.(%)= 19,71					

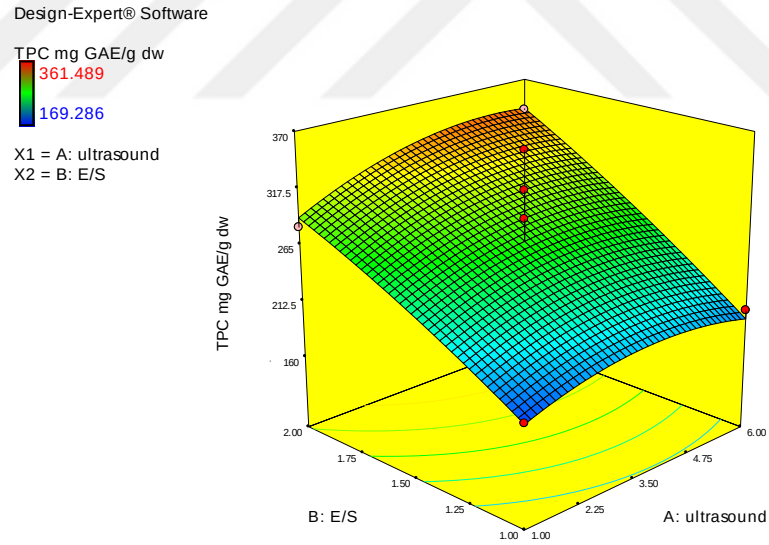
* $p \geq 0,05$ düzeyinden önemli.

Demirel vd. (2011) çalışmasında antioksidan *L. Obtusa*'da antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Deney sonuçlarında *L. obtusa* ve *L. obtusa*'nın toplam fenolik bileşiklerini sırasıyla $48,15 \pm 0,9$ GAE mg/1g, $12,31 \pm 0,9$ GAE mg/g olarak belirlemiştir. Benzer olarak, Heo vd. (2006) yaptığı çalışmada, en yüksek fenolik aktiviteleri *Gracilaria textorii* için $87,50 \pm 6,61$, *Martensia denticulata* 'da $86,58 \pm 3,33$, *Ahnfeltiopsis flabelliformis* $85,70 \pm 6,11$ bulurken, en düşük fenolik aktiviteleri ise *Sinkoraena lancifolia* $12,50 \pm 0,50$, *Pterocladella capillacea* $12,50 \pm 3,33$ ve *Grateloupia filicina* $5,00 \pm 3,00$ olarak bulmuştur.

Ekstraktların fenolik madde miktarı üzerine E/S ve ultrasesin uygulanma süresinde interaksiyon etkileri Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te görülmektedir. Sonuçlara göre (Şekil 4.6) tüm ultrases zamanlarında E/S oranının 1 ila 1,50 olduğu bölgede en düşük TPC mg GAE/g dw elde edilirken, yaklaşık olarak 2,25 ultrases uygulandığında E/S oranı 1,75 ila 2,00 olduğunda en yüksek TPC mg GAE/g dw elde edilmiştir.



Şekil 4.3. Ekstraktların fenolik madde miktarı üzerine E/S ve ultrases uygulama süresiyle arasında olan bağlantıyı gösteren 2D kontur plot grafiği.



Şekil 4.4. Ekstraktların fenolik madde miktarı üzerine E/S ve ultrases uygulama süresiyle arasında olan bağlantıyı gösteren 3D kontur plot grafiği.

4.6 Antioksidan Aktivite

Sunulan bu tez çalışması kapsamında *Laurencia pyramidalis* makroalginin antioksidan aktivitesi 171,24 mg TE/g olarak bulunmuştur. Çizelge 4.5'te ikinci dereceden polinomyal modelin varyans analizi sunulmuştur.

Çizelge 4.5. İkinci dereceden polinomyal modelin varyans analizi (ANOVA).

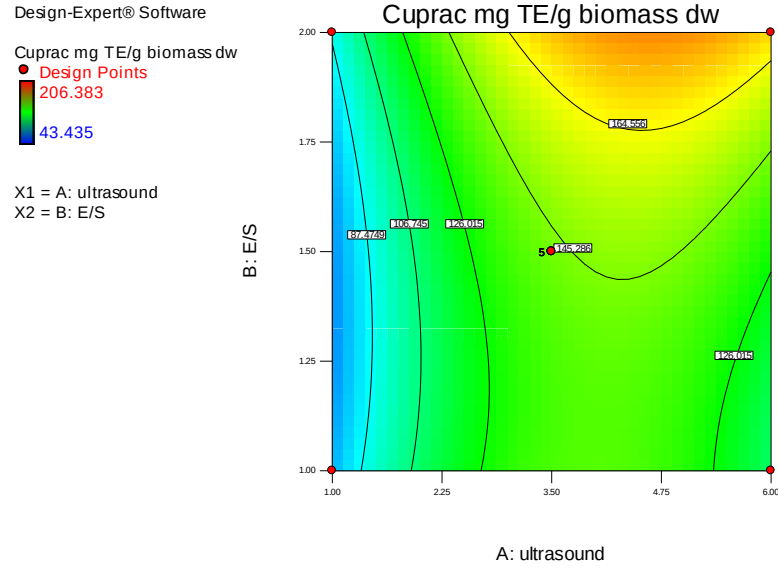
Kaynak	Kareler toplamı	DF	Ortalama kare	F - değeri	p - değeri
Antioksidan aktivite (CUPRAC)					
Model	26177,98	5	5235,60	2,19	0,1682
Doğrusal β_1 β_2	7058,12 2846,31	1 1	7058,12 2846,31	2,95 1,19	0,1297 0,3117
Kaudratik β_{11} β_{22}	13424,29 1069,09	1 1	13424,29 1069,09	5,61 0,45	0,0498* 0,5254
İnteraksiyon β_{12}	523,94	1	523,94	0,22	0,6541
Artan	16759,27	7	2394,18	-	-
Modelin uyumsuzluğu	5858,80	3	1952,93	0,72	0,5916
Saf hata	10900,47	4	2725,12	-	-
Toplam	42937,24	12	-	-	-
$R^2=0,6097$; C. V.(%)=39,61					

* $p \geq 0,05$ düzeyinden önemli.

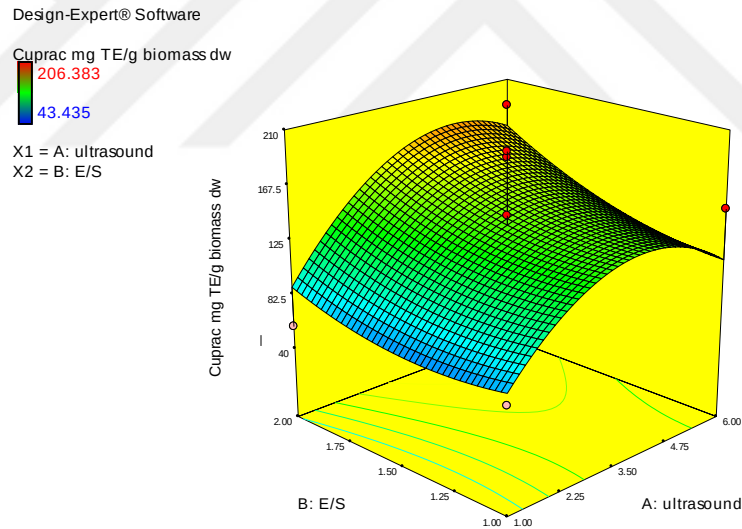
Bu bulgular diğer kırmızı makroalglerle karşılaştırılmıştır. *Laurencia pyramidalis* makroalgi diğer makroalglerle göre yüksek oranlarda antioksidan içermektedir. Örnek olarak Blamo vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada *Laurencia intermedia*'nın yüksek antioksidan aktivitelere sahip olduğundan bahsedilmiştir. Optimum ekstraksiyon koşullarında TFMM verimi, DPPH süpürme yeteneği ve ferrik indirgeme antioksidan gücü sırasıyla $161,79 \pm 3,52$ mg GAE/100 g, $32,30 \pm 1,20$ mg TE/100 g ve $87,77 \pm 3,17$ mg TE/100g olarak bildirilmiştir. Benzer şekilde; Monla vd. (2021) çalışmasında kırmızı bir makroalg olan *L. obtusa* ekstraktlarının yeşil bir makroalg olan *U. lactuca* ekstraktlarına göre daha güçlü antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmiştir. *Laurencia obtusa*'nın protein özütünde 500 $\mu\text{g/mL}$ 'de DPPH serbest radikallerinin %60,81'ini inhibe ettiğini göstermiştir. Anggadiredja vd. (1997) ise çalışmasında *Laurencia obtusa* ve *Sargassum polycystum* ile yaptığı çalışmada *Laurencia obtusa*'da karetenoid ve seskiterpenoid'lerin varlığını tespit etmiştir. *Laurencia obtusa*'nın antioksidan aktivitesinin *Sargassum polycystum*'a göre daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Topuz vd. (2015) ise *Laurencia obtusa*'nın fenolik içerik ve antioksidan aktivitesini test ettiğinde değerleri sırasıyla $26,23 \pm 0,75$ mg GAE/g alg ve $120,89 \pm 0,81$ TEAC olarak rapor etmiştir.

Matsukawa vd. (1997) toplam 17 makroalg türünde yaptıkları bir araştırmada kırmızı bir makroalg olan *Sargassum* spp.'nin en yüksek antioksidan etkide olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde; Buonomo vd. (2017) genel olarak akdenizde görülen *Cystoseira* genusuna ait 8 tür ile yapılan çalışmada, bu türler içinde *Cystoseira amentacea* makroalg ekstraktlarının en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu rapor etmiştir. Diğer bir örnekte; Kosanic vd. (2018) yaptığı çalışmada *Laurencia obtusa*'yı incelemiştir. *Laurencia obtusa*, *Codium elongatum* ve *Cutleria multifida*'nın antioksidan aktivitesi, serbest radikal süpürme, süperoksit anyon radikal süpürme ve indirgeme gücü ile değerlendirilmiştir. *C. elongatum*'dan elde edilen ekstrakt, *L. obtusa* ve *C. Multifida* 'dan daha büyük antioksidan aktiviteler göstermiştir. Yıldız vd. (2014) ise çalışmasında, *Ulva ridida*, *C. Agardh*, *Codium tomentosum*, *S.coronopifolius* *Gracilaria gracilis* 'te toplam antioksidan içeriği ve toplam fenolik içeriğini incelemiştir. En yüksek biyoaktif bileşenleri *U. Ridida*'da bulurken bunu sırasıyla *C.tomentosum*, *G.gracilis* ve *S.coronopifolius* 'un izlediğini belirtmiştir. Bu çalışma sonucunda *U.ridida* ve *C.tomtentosum*'un metanolik ekstraktlarının doğal antioksidan kaynakları olarak kullanılabileceğini belirtmiştir.

Ekstraktların antioksidan aktivite miktarı üzerine E/S ve ultrasesin uygulanma süresinde interaksiyon etkileri Şekil 4.6 ve Şekil 4.7'de görülmektedir. Sonuçlara göre (Şekil 4.4) yaklaşık olarak 1,00 ila 2,25 ultrases uygulamasında CUPRAC mg TE/g en düşükken, 3,5 ila 6,00 ultrases uygulamasında ve E/S oranının 1,75 ila 1,00 olduğunda en yüksek CUPRAC mg TE/g olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.5. Ekstraktların antioksidan aktivite miktarı üzerine E/S ve ultrases uygulama süresiyle arasında olan bağlantıyı gösteren 2D kontur plot grafiği.



Şekil 4.6. Ekstraktların antioksidan aktivite miktarı üzerine E/S ve ultrases uygulama süresiyle arasında olan bağlantıyı gösteren 3D kontur plot grafiği.

4.7 Tekno-Fonksiyonel Özellikler

4.7.1 Su tutma kapasitesi

Bu çalışmada *Laurencia pyramidalis* makroalgi için su tutma kapasitesi $97,85 \pm 0,29$ olarak bulunmuştur. Literatürde bu makroalglerle ilgili çalışma olmayıp diğer kırmızı makroalgler ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar *Laurencia pyramidalis*

ile karşılaştırıldığında *Laurencia pyramidalis*'in yüksek oranlarda su tutma kapasitesi sergilediği saptanmıştır.

Song vd. (2022) çalışmasında kırmızı bir makroalg olan *Gracilariopsis lemaneiformis* ile yaptığı çalışmada su tutma kapasitesi %24,20 bulmuştur. Buna bağlı olarak bu makroalg ile yapılacak çalışmaların gıda endüstrisinde büyük bir potansiyele sahip olabileceğini ifade etmiştir. Mahardika vd. (2019) ise kırmızı bir makroalg olan *Kappaphycus alvarezii*'nin ile yapmış olduğu çalışmada bu makroalgin su tutma kapasitesini %10,4 olarak bildirmiştir. Benzer olarak; Chan ve Matanjun (2017) yaptığı çalışmada kırmızı bir makroalg olan *Gracilaria changii*'nin su tutma kapasitesini incelemiştir. Bu çalışma sonucunda *G. Changii makroalginin* bazı ticari lif bakımından zengin ürünlerle karşılaştırılabilir nitelikte olduğunu rapor etmiştir. Kumar vd. (2020) ise *Enteromorpha kompres*, *Enteromorpha linza* ve *Enteromorpha tubulosa* alglerinde su tutma kapasitesini sırasıyla $1,22 \pm 0,06$ ila $1,53 \pm 0,07$ ml H₂O/g olarak bildirmiştir. Benzer şekilde; Kumar vd. (2014) *Kappaphycus alvarez* algii için su tutma kapasitesini ($2,22 \pm 0,04$ ml H₂O/g) olarak bildirmiştir. Muraguri (2017) ise alglerle yaptığı çalışmasında su tutma kapasitesini *Eucheuma denticulatum* için $8,42 \pm 0,84$, *Ulva fasciata* için $13,75 \pm 0,87$ ml/g aralığında rapor etmiştir.

4.7.2 Yağ tutma kapasitesi

Sunulan bu tez çalışmasında *Laurencia pyramidalis* için yağ tutma kapasitesi $189,137 \pm 0,24$ olarak bulunmuştur. Bu değer diğer kırmızı makroalglerle karşılaştırıldığında oldukça yüksektir. Yüksek çıkan değer farklılıklarının sebebi makroalglerin türleri, makroalglerin toplanma mevsimleri ve deney prosedürlerinde farklılıklar olabilmektedir (Kumar vd., 2014). Örneğin; Benjama ve Masniyom (2012) çalışmasında *Gracilaria fisheri* ve *Gracilaria tenuistipitata* kırmızı makroalglerini incelemiştir. Bu çalışmada yağ tutma kapasitesinin 1,8 ila 2,3 g yağ/g aralığında olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde; Rosemary vd. (2019) *Gracilaria edulis* ve *Gracilaria corticata* ile yaptığı çalışmada yağ tutma kapasitesini *Gracilaria corticata* için $1,84 \pm 0,40$, *Gracilaria edulis* için $1,91 \pm 0,18$ olarak belirlemiştir. Kumar vd. (2020) *E. kompres*, *Enteromorpha linza* ve *Enteromorpha tubulosa* alglerinde yağ tutma kapasitesini $1,05 \pm 0,07$ ila $1,34 \pm 0,10$ ml yağ/g PC olarak rapor etmiştir. Başka bir çalışmada, Song vd. (2022) kırmızı bir alg olan *Gracilariopsis lemaneiformis* 'te yağ tutma kapasitesini incelemiştir. Bu çalışma sonucunda yağ tutma kapasitesini

(8,26 g/g) olarak bildirmiştir. Benzer şekilde; Etemadian vd. (2017) kahverengi bir alg olan *Sirophysalis trinodis* için (2,26±0,22g yağ/g) değerlerini, ve *Polycladia myrica* için ise (2,65±0,11 g yağ/g) değerlerini bildirmiştir. Kumar vd. (2014) ise *Kappaphycus alvarez* algı için yağ tutma kapasitesini (1,29±0,20 ml yağ/g PC) olarak bildirirken, Etemadian vd. (2017) kahverengi makroalgler ile yaptığı çalışmada *Sirophysalis Trinodis* için (2.26±0.22) g yağ g⁻¹ numunesi) ve *Polycladia myrica* için (2,65±0,11 g yağ g⁻¹ numunesi) bildirmiştir.

4.7.3 Köpürme kapasitesi ve köpürme stabilitesi

Sunulan bu tez çalışmasında *Laurencia pyramidalis* makroalginin köpürme kapasitesi %5,42±0,05, köpürme stabilitesi ise %1,44±0,01 olarak saptanmıştır. Literatürde bu makroalglerle ilgili çalışma mevcut olmayıp diğer makroalgler ve bitkisel kaynaklar ile köpürme kapasitesi ve köpürme stabilitesi karşılaştırmaları yapılmıştır. Bu karşılaştırma sonucu *Laurencia pyramidalis* makroalginin köpürme stabilitesi diğer makroalglerle kıyasla düşük olduğu gözlemlenmiştir. Buna sebep olarak kullanılan makroalg türleri, makroalglerin toplanma mevsimleri ve deney prosedürlerindeki farklılıklar gösterilebilir (Kumar vd., 2014).

Örnek olarak; Etemadian vd. (2017) *Sirophysalis trinodis* ve *Polycladia myrica* makroalg ekstraktlarının köpürme kapasitesini sırasıyla (146,67±%37,86 ve %100±20,00) ve köpük stabilitesini (136,67±%70,95) olarak rapor etmiştir. Kumar vd. (2014) çalışmasında *Kappaphycus alvarez* algı için en düşük (38±%2), en yüksek köpürme kapasitesi (%53,33±%2,31) olarak kaydetmiştir. Shao ve Kao (2014) soya fasulyesi ile yaptığı çalışmada sonuçlar, yapılan köpüklerin soya proteininin 164-1503 mL'de köpük kapasitesine, 0,13-0,44'te maksimum yoğunluğa, %0-85'te sıvı yüzdesine ve köpük stabilitesinin ise %1-90 aralığında olduğunu bildirmiştir. Wang vd. (2015) pirinç kepeği ile yaptığı çalışmasında pirinç kepeği proteinlerinin köpük bağlama kapasitesinin oldukça yüksek olduğunu ve bununla beraber köpük stabilitesinin yumurta albümini ile kıyaslanacak kadar fazla olduğunu rapor etmiştir.

4.7.4 Emülsiyon aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi

Sunulan bu tez çalışmasında *Laurencia pyramidalis* makroalginin emülsiyon aktivitesi %43,89±0,06, emülsiyon stabilitesi ise %5±0,00 olarak saptanmıştır. Bu

değerlerin diğer çalışmalarla kıyaslanması sonucu benzer oranlarda emülsiyon aktivitesi ve düşük oranda emülsiyon stabilitesi olduğu görülmektedir. Buna sebep olarak makroalg türü, makroalglerin toplanma mevsimi, kurutulma şartları, deney prosedürleri gösterilebilir (Etemadian vd. 2017; Muraguri, 2017). Örneğin; Etemadian vd. (2017) çalışmasında *S. trinodis* ve *P. myrica* alg ekstraktlarının emülsiyonlaştırma kapasitelerini sırasıyla $3,33 \pm 0,00$ ve $3,33 \pm 0,84$ olarak bildirmiştir. Muraguri (2017) ise çalışmasında emülsiyon aktivitesini *Eucheuma denticulatum* algi için $59,19 \pm 0,97$, *Ulva fasciata* algi için $75,69 \pm 3$ aralığında rapor etmiştir. Karaca vd. (2011) çalışmalarında mercimek protein izolatının nohut protein izolatına göre daha yüksek emülsifiye etme kapasitesinde olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada, mercimek protein izolatlarının soya protein izolatlarına göre daha yüksek değerlerde emülsifiye etme kapasitesi ve kararlılığına sahip olduklarını rapor etmişlerdir. Başka bir örnek çalışmada; Aydemir ve Yemenicioğlu (2013) nohut proteinin emülsiyon oluşturabilme kapasitesini peynir altı suyu proteini ve soya proteiniyle benzer miktarda olduğu saptanmıştır.

5. OPTİMİZASYON VE DOĞRULAMA

Laurencia pyramidalis makroalginin protein ekstraksiyonu yanıt yüzey metodolojisi kullanılarak optimize edilmek suretiyle gerçekleştirilmiştir. *Laurencia pyramidalis* makroalginin kuru bazda protein içeriği %13,09±0,24, yağ içeriği %0,80±0,00, kül içeriği %26,42±1,37 ve ham lif içeriği ise %15,21±0,09 olarak bulunmuştur. Optimum ekstraksiyon koşullarında (ultrases uygulama süre: 6 dak ve enzim/substrat: 2) elde edilen protein ekstraktlarının kuru ağırlıkta protein miktarı 224,69 mg protein/g, toplam fenolik madde miktarı 341,10 mg gallik asit eşdeğeri (GAE) / g ve antioksidan aktivitesi 171,24 mg TE / g'dir. Optimum koşullarda elde edilmiş olan protein ekstraktlarında su tutma kapasitesi %97,85±0,29, yağ tutma kapasitesi %189,14±0,24, emülsiyon kapasitesi %43,89±0,06, emülsiyon stabilitesi %5±0,00, köpürme kapasitesi %5,42±0,05, köpürme kapasitesi ise %1,44±0,01 olarak bulunmuştur. Çizelge 5.1'de optimize edilmiş ekstraksiyon koşulları görülmektedir.

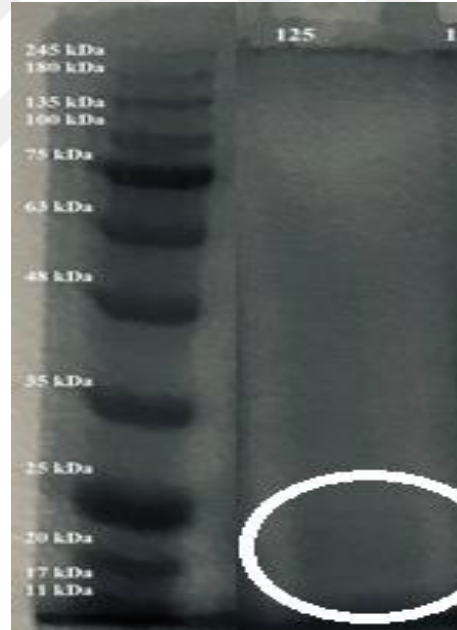
Çizelge 5.1. Araştırılmış olan yanıtların hedef ve öngörülen değerleriyle optimize edilmiş ekstraksiyon şartları.

İsim	Hedef	En düşük	En yüksek	Öngörülen
Ultrases zamanı, dakika	Aralıkta	1	6	6
Enzim/substrat oranı	Aralıkta	1	2	2
Protein miktarı, mg protein/g örnek	En yüksek	48,82	228,88	224,69
Toplam fenolik madde miktarı, mg GAE/g örnek	Aralıkta	169,29	361,49	341,10
Antioksidan aktivite, g TE/g örnek	Aralıkta	43,44	206,38	171,42

5.1 SDS-PAGE Elektroforez ile Tanımlama Çalışması

Sunulan bu çalışmada *Laurencia pyramidalis* makroalgindene protein ekstraktları, SDS-PAGE sonucuna göre, 11 kDa ve 25 kDa arasında görünen belirsiz bir kaç protein fraksiyonu içermektedir. Literatürde diğer çalışmalar ile kıyaslamalar yapıldığında farklı sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Sonuç farklılıklarının sebebi olarak makroalglerin farklı coğrafi konumlardan toplanması, yetiştirme koşulları, toplanan mevsim farklılıkları ve ekstraksiyon koşullarından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Kazir vd., 2019). Örneğin; Rouxel vd. (2001) *Palmira palmata* kırmızı makroalgi için 59,6 kDa ile 15,2 kDa arasında görünen altı protein bandından oluştuğunu, *Gracilaria verrucosa* makroalginin 49,1 kDa ve 45,9 kDa arasında görünen sekiz proteinin

bandından oluştuğunu, *Chondrus crispus* makroalgi için 46,2 kDa ile 43,2 kDa aralığında görünen yedi protein bandından oluştuğunu ve *Porphyra umbilicalis* makroalgi için 73,1 ile 15,9 kDa aralığında görünen sekiz banttandır. Yine Rouxel vd. (2001) başka bir çalışmada, *Ulva rotundata* için 69,9 kDa ve 15,5 kDa arasında yer alan 7 banttandır, *Ulva rida* için ise 68,5 kDa, 56,4 kDa ve 44,7 kDa olan üç banttandır, *Enteromorpha kompresi* için ise 65,8 kDa ve 19,8 kDa arasında yer alan altı banttandır rapor etmiştir. Lim ve Teo (2015) *Eucheuma cottonii* kırmızı makroalgi için 27 kDa ila 158 kDa arasında gözlemlenen birkaç yoğun protein bandı ile net protein profilleri gösterdiğini rapor etmiştir. Souza vd. (2010) ise *Georgiella confluens* kırmızı makroalgi ile yaptığı çalışmada 25,5 kDa ve 21,5 kDa aralığında tek bir protein bandı sergilediğini bildirmiştir. Şekil 5.1’de 80 V, %12 ayırma jeli, %5 istifleme jeli koşullarında, *Laurencia pyramidalis* protein ekstraktının SDS-PAGE görüntüsü sunulmuştur.



Şekil 5.1. 80 V, %12 ayırma jeli, %5’lik yürütme jeli koşullarında, *Laurencia pyramidalis* protein ekstraktının SDS-PAGE görüntüsü.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Laurencia pyramidalis makroalg içerdiği yüksek oranda protein ve fonksiyonel özellikleri sebebi ile önemli bir gıda kaynağı olarak görülmektedir. Bu tez çalışmasında *Laurencia pyramidalis* makroalginden proteinlerin ultrases destekli enzimatik ekstraksiyonunda, ekstraksiyon koşullarının yüzey yanıt metodolijisi ile optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. *Laurencia pyramidalis* kırmızı makroalg izerine yapılan bu çalışmada kuru bazda protein içeriğı %13,09±0,24, yağ içeriğı %0,79±0,00, kl içeriğı %26,43±1,37, karbonhidrat içeriğı %44,47±0,22 ve ham lif içeriğı ise %15,22±0,09, su tutma kapasitesi %97,85±0,29, yağ tutma kapasitesi %189,37±0,24, emülsiyon aktivitesi %43,89±0,06, emülsiyon stabilitesi %5±0,00, köpürme kapasitesi %5,42±0,05 köpürme stabilitesi %1,44±0,01 olarak bulunmuştur. *Laurencia pyramidalis*’ten elde edilen protein konsantreleri, literatürde bulunan bağka makroalg türleri ve diğerk bitkisel kaynaklarla kıyaslandığında yüksek oranlarda protein içeriğı, su tutma kapasitesi ve yağ tutma kapasitesi içerirken, diğerk kaynaklara benzer oranlarda antioksidan aktivite, fenolik içerik ve emülsiyon aktivitesi sergilemiştir. *Laurencia pyramidalis*’in köpürme kapasitesi ve protein çözünürlüğü ise literatürdeki diğerk makroalglerle karėılaėtırıldığında daha dğk olarak saptanmıştır.

Laurencia pyramidalis makroalginin protein içeriğı, antioksidan aktivite, su tutma kapasitesi ve yağ tutma kapasitesinin yüksek olması, gelecek çalışmalarda gıda sanayisinde kullanım potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. rneğink; antioksidan aktivitesinin yüksek olması sebebi ile oksidasyona karėı gıdayı koruyabilme özelliğı olacağı dğnldğnden meyve suları, meyve joleleri ve kararma problemi yağanan diğerk gıda ürünlerine katılmasının olumlu sonuçlar vereceğı öngörülmektedir. Su tutma kapasitesinin yüksek olması sebebi ile muhallebi, sosis, hamur et ve et ürünleri gibi ürünlere katılarak viskozite ve nem dengesini sağlayacağı, yağ tutma kapasitesinin yüksek olması sebebi ile de mayonez yer fıstığı yağı gibi ürünlere katılmasının gıdayı olumlu yönde etkileyeceğı tahmin edilmektedir. Aynı zamanda protein içeriğinin yüksek olması sebebi ile katıldığı gıdanın protein özelliğini artıracğından tercih edilebilir niteliktedir.

Protein çözünürlüğünün pH 2’de dğk olduğu göz önüne alındığında gıda endüstrisinde asidik gıdalarda kullanılamayacağı ngrlmėtr. Ancak daha bazik

koşullarda bir gıda ürününe katıldığında çözülebilir olduğu düşünülmektedir. Köpürme kapasitesinin düşük olması sebebi ile yumurta ve bira gibi köpürme faktörünün önemli olduğu gıda ürünlerine katılmasının olumsuz sonuç vereceği öngörülmüştür. Köpürme kapasitesi ve protein çözünürlüğünün düşük olması sebebi ile gelecek çalışmalarda ekstraksiyon koşulları farklılaştırılarak bu özelliklerinin iyileştirilebilir nitelikte olduğu düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Axelsson, J., Carlsson, N., Göran, M., Albers, E. ve Undeland, I., 2019. Effect of stabilization method and freeze/thaw-aided precipitation on structural and functional properties of proteins recovered from brown Seaweed (*Saccharina Latissima*), Food Hydrocolloids, 96, 140-150.
- Ak, İ., 2015. Sucul ortamın ekonomik bitkileri; Makroalgler, Dünya Gıda Dergisi, 12, 88-97.
- Aktar, S., 2010. Alglerin genel özellikleri, kullanım alanları ve eczacılıktaki önemi, Ankara Ecz. Fak. Dergisi, 39, 237-264.
- Akyıl, S., İlter, I., Koç, M. ve Kaymak-Ertekin, F., 2016. Alglerden elde edilen yüksek değerlikli bileşiklerin biyoaktif/biyolojik Uygulama Alanları, Akademik Gıda, 14, 418-423.
- Akyüz, A. ve Bilek, S., 2018. Protein çöktürme yöntemlerinin karşılaştırılması, Çukurova Tarım Gıda Bilimleri Dergisi, 20, 83-92.
- Alçay, A., Bostan, K., Dinçel, E. ve Varlık, C., 2017. Alglerin İnsan Gıdası Olarak Kullanımı, Aydın Gastronomy, 1, 47-59.
- Anderson, D., Burkholder, J., Cochlan, W., Glibert, P., Gobler, C., Heil, C., Kudela, R., Parsons, M., Rensel, J., Townsend, D., Trainer, V. ve Vargo, G., 2008. Harmful algal blooms and eutrophication: Examining linkages from selected coastal regions of the united states, Harmful Algae, 8, 39-53.
- Anggadiredja, J., Andyani, R. ve Muawanah, Y., 1997. Antioxidant activity of *Sargassum Polycystum* (Phaeophyta) and *Laurencia Obtusa* (Rhodophyta) from Seribu Islands, Journal of Applied Phycology, 9, 477–479.
- AOAC, 1990. Method 925.10. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, 777.
- AOAC, 1990. Method 925.03. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists: Vol 17th ed. Washington, USA, Wiliam Howitz Editor, 1110-1117.
- AOAC, 1990. Method 954.02. Official Methods of Analysis. AOAC International: Vol 15th ed. Gaithersburg, Maryland.
- AOAC, 1990. Method 978.10. Official Methods of Analysis. AOAC International: Vol 19th ed. USA, 1-3.
- AOAC, 1990. Method 950.48. Official Methods of Analysis. AOAC International: Vol 17th ed. USA, 343-343.

- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S.E., 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970–7981.
- Ashoush, Y., El-Sayed, S., Farid,, H. ve Abd-Elwahab, M., 2017. Biochemical studies on red algae gelidium sp. Grown in Egypt, *Chemistry Research Journal*, 2, 334-341.
- Aydemir, Y. ve Yemenicioğlu, A., 2013. Potential of Turkish Kabuli type chickpea and green and red lentil cultivars as source of soy and animal origin functional protein alternatives, *LWT - Food Science and Technology*, 50, 686-694.
- Bakkaloğlu, Z., 2021. Arı poleni proteinleri ve fonksiyonel özellikleri, *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 21, 247-256.
- Barbarino, E. ve Lourenço, S., 2005. An evaluation of methods for extractions and quantification of protein from marine macro and microalgae, *Journal of Applied Phycology*, 17, 447-460.
- Barka, A. ve Blecker, C., 2016. Microalgae as a potential source of single-cell proteins. A review, *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 20, 427-436.
- Benjama, O. ve Masniyom, P., 2012. Biochemical composition and physicochemical properties of two red seaweeds (*Gracilaria Fisheri* and *G. Tenuistipitata*) from the pattani bay in southern Thailand, *Sonklanakarin Journal of Science and Technology*, 34, 223-230.
- Blamo, P., Pham, H. ve Nguyen, H., 2020. Maximising phenolic compounds and antioxidant capacity from *Laurencia intermedia* using ultrasound-assisted extraction, *AIMS Agriculture and Food*, 6, 32-48.
- Bleakley, S. ve Hayes, M., 2017. Algal Proteins: Extraction, Application, and Challenges Concerning Production, *Foods*, 5-6.
- Bleakley, S. ve Hayes, M., 2021. Functional and bioactive properties of protein extracts generated from spirulina platensis and isochrysis galbana T-Iso, *Applied Sciences*, 11-3964.
- Bobrovskiy, I., Hope, J., Nettersheim, B., Volkman, J., Hallmann, C. ve Brocks, J., 2021. Algal origin of sponge sterane biomarkers negates the oldest evidence for animals in the rock record, *Nature Ecology and Evolution*, 5, 165-168.
- Buonomo, R., Assis J., Fernandes, F., Engelen, A. H., Airoidi L. ve Serrão, E. A., 2017. Habitat continuity and stepping-stone oceanographic distances explain population genetic connectivity of the brown alga cystoseira amentacea, *Molecular Ecology*, 26, 766-780.
- Chan, P. ve Matanjun, P., 2017. Chemical composition and physicochemical properties of tropical red seaweed, *Gracilaria Changii*, *Food Chemistry*, 221, 302-310.

- Chronakis, S., 2001. Gelation of edible blue-green algae protein isolate (*Spirulina Platensis* strain pacifica): Thermal transitions, rheological properties, and molecular forces involved, *Journal Of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 888-898.
- Connan, S., Goulard, F., Stige, V., Deslandes, E. ve Ar Gall, E., 2004. Interspecific and Temporal Variation in Phlorotannin Levels in an Assemblage of Brown Algae, *Botanica Marina*, 47, 5.
- Sahoo, D. ve Seckbach, J., 2015. *The algae world*. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Dede, Ö., Dede, G. ve Özdemir, S., 2011. Su yosunu (*Ulva lactuca*)’nun toprağın su tutma kapasitesine etkisi, *SAÜ. Fen Bilimleri Dergisi*, 15, 1, 30-35.
- Demirel, Z., Koz, F., Ülkü N. ve Özdemir, G., 2011. Antimicrobial and antioxidant activities of solvent extracts and the essential oil composition of *Laurencia obtusa* and *Laurencia obtusa* and *Laurencia pyramidata*, *Romanian Biotechnological Letters*, 16, 5927-5936.
- Ergün, A., Baysal, T. ve Bozkır, H., 2013. Ultrases Yöntemi ile Karotenoitlerin Ekstraksiyonu, *Gıda*, 38, 239-246.
- Etemadian, Y., Shabanpour, B., Ramzanpour, Z., Shaviklo, A. ve Kordjazi, M., 2017. Studies on the functional properties of water extracts of the brown seaweeds *Sirophysalis trinodis* and *Polycladia myrica*, *Journal of Applied Phycology*, 30, 1989–1999.
- Fleurence, J., 1999. Seaweed proteins: Biochemical, nutritional aspects and potential uses, *Trends in Food Science & Technology*, 10, 25-28.
- Fleurence, J., Moranchais, M., Dumay, J., Decottignies, P., Turpin, V., Munier, M. ve Jaouen, P., 2012. What are the prospects for using seaweed in human nutrition and for marine animals raised through aquaculture?, *Trends in Food Science and Technology*, 27, 57-61.
- Gajaria, T., Suthar P., Baghel, R., Balar, N., Sharnagat, P., Mantri, V. ve Reddy, C., 2017. Integration of protein extraction with a stream of byproducts from marine macroalgae: a model forms the basis for marine bioeconomy, *Bioresource Technology*, 867-873.
- Glasson, R., Luiten, C. A., Carnachan, S. M., Daines, A. M., Kidgell, J. T., Hinkley, S. F., Praeger C., Martinez, M., Sargison L., Magnusson, M., Nys R. ve Sims, I. M., 2022. Structural characterization of ulvans extracted from blade (*Ulva Ohnoi*) and filamentous (*Ulva Tepida* and *Ulva Prolifera*) Species of Cultivated *Ulva*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 194, 571-579.
- Gomes, N., Vieira, M., Tomas, J. D. C., Tomazzoli, M. M., Grunennvaldt, R. L., Fagundes, C. D. M. ve Machado, R. C. B., 2018. Brown seaweed extract enhances rooting and roots growth on passiflora actinia hook stem cuttings, *Ornamental Horticulture*, 24, 269-276.

- Gora, A., Rehman, S., Agarwal, D. ve Rasool S. I., 2018. Seaweeds: A sustainable resource for food and pharmaceutical industry in india, ecology, Environment and Conservation Paper, 24, 246-254.
- Gordalina, M., Pinheiro, H., Mateus, M., Fonseca, M. ve Cesário, M., 2021. Macroalgae as protein sources-a review on protein bioactivity, extraction, Purification and Characterization, Applied Sciences, 11, 7969.
- Göksel, M., 2011. Farklı gıda lif kaynaklarının araştırılması, üretimi, kimyasal karakterizasyonu ve model olarak seçilen bazı ürünlerde kullanım olanakları, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Gressler, V., Yokoya, N., Fujii, M., Colepicolo, P., Filho, J., Torres, R. ve Pinto E., 2010. Lipid, fatty acid, protein, amino acid and ash contents in four brazilian red algae species, Food Chemistry, 120, 585-590.
- Grossman, R., Catalanotti, C., Yang, W., Dubini, A., Magneschi, L., Subramanian, V., Posewitz, M. ve Seibert, M., 2011. Multiple facets of anoxic metabolism and hydrogen production in the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, New Phytologist, 190, 279-288.
- Gupta, V., Ratha, S., Sood A., Chaudhary, V. ve Prasanna, R., 2013. New insights into the biodiversity and applications of cyanobacteria (Blue-Green Algae) - Prospects and challenges, Algal research, 2, 79-97.
- Gümüş, B., 2014. Bazı denizel makroalg özütlerinin fitokimyasal özellikleri ve su ürünleri işleme teknolojisinde kullanım olanaklarının araştırılması, Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Gümüş, B., Ünlüsayın, M. ve Gümüş, E., 2019. Gıdalarda deniz kaynaklı makroalg özütü kullanımı ve lipid oksidasyonunu önlemede antioksidan etkisi, Akademik Gıda, 17, 3, 389-400.
- Gündoğan, R., 2019. Türkiye’de yetiştirilen fasulye çeşitlerinden izole edilen proteinlerin çeşitli fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Güzel, M., 2011. Mahlep çekirdeği içinden üretilen protein konsantresinin bazı kimyasal ve fonksiyonel özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Hamedy, P. ve Fitz, R., 2011. Bioactive proteins, peptides and amino acids from macroalgae, Journal Of Phcology, 47, 218-232.
- Heo, S., Cha, S., Lee, K. ve Jeon, Y., 2006. Antioxidant activities of red algae from jeju island, Faculty of Applied Marine Science, 21, 149-156.
- Hmani, I., Ktari, L., Ismail, A., M’dallel, C. ve Bour, M., 2021. Assessment of the antioxidant and antibacterial properties of red algae (Rhodophyta) from the north coast of tunisia, Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration, 6, 13.

- Hmelkov, A., Zvyagintseva, T., Shevchenko, N., Rasin, A. ve Ermakova, S., 2018. Ultrasound-Assisted extraction of polysaccharides from brown alga *Fucus evanescens*. Structure and biological activity of the new fucoidan fractions, *Journal of Applied Phycology*, 30, 2039-2046.
- Irmouli, A., Fleurence, J., Lamghari, R., Luc, M., Rouxel, C., Barbaroux O., Bronowicki, J., Villaume C. ve Gue'ant J., 1999. Nutritional value of proteins from edible seaweed, *Palmaria Palmata* (Dulse), 10, 353-359.
- Jarpa-Parra, M., Bamdad, F., Wang, Y., Tian, Z., Temelli, F., Han, J. ve Chen, L., 2014. Optimization of lentil protein extraction and the influence of process pH on protein structure and functionality, *LWT-Food Science and Technology*, 57, 461-469.
- Jeliani, Z., Yousefzadi, M., Kokabi, M., Sorahinobar, M., Sourinejad, I. ve Malik, S., 2021. Assessment of biochemical constituents and nutritional aspects in *Gracilariopsis persica* and *Hypnea flagelliformis*, *Journal Of Aquatic Food Product Technology*, 31, 1-12.
- Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A. ve Koocheki, A., 2014. Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*, 36, 9-19.
- Kadam, S., Álvarez, C., Tiwari, B. ve Donnelly, C., 2017. Extraction and characterization of protein from Irish brown seaweed *Ascophyllum nodosum*, *Food Research International*, 99, 1021-1027.
- Kamiya, H., Gotoh, K., Shimada, M., Uchikoshi, T., Otani, Y., Fuji, M., Matsusaka, S., Matsuyama, T., Tatami, J., Higashitani, K., Kurihara, K., Ishida, N., Suzuki, M., Abe H., Otsubo, Y. ve Miyahara, M., 2008. Characteristics and behavior of nanoparticles and its dispersion systems, *Nanoparticle Technology Handbook*, 113-176.
- Karabulut, H. ve Gülay, M., 2016. Antioksidanlar, *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1, 65-76.
- Karaca, C., Nickerson, M.T. ve Low, N.H., 2011. Lentil and chickpea protein-stabilized emulsions: optimization of emulsion formulation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 13203- 13211.
- Kazir, M., Abuhassira, Y., Robin, A., Nahor, O., Luo J., Israel, A., Golberg, A. ve Livney, Y. D., 2019. Extraction of proteins from two marine macroalgae, *Ulva* Sp. and *Gracilaria* Sp., for food application, and evaluating digestibility, amino acid composition and antioxidant properties of the protein concentrates, *Food Hydrocolloids*, 87, 194-203.
- Kelman, D., Posner, E., McDermid, K., Tabandera, N., Wright, P. ve Wright, A., 2012. Antioxidant activity of Hawaiian marine algae, *Marine Drugs*, 10, 403-416.
- Kosanovic, M., Rankovic, B. ve Stanovkovic, T., 2018. Evaluation of antioxidant, antimicrobial and anticancer effects of three selected marine macroalgae, *Romanian Biotechnological Letters*, 10, 1-10.

- Kovalenko, I., Zdyrko, B., Magasinski, A., Hertzberg, B., Milicev, Z., Burtovyy, R., Luzinov, I. ve Yushin, G., 2011. A major constituent of brown algae for use in high-capacity li-ion batteries, *Science*, 334, 75-79.
- Kumaran, A., 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food chemistry*, 97, 109-114.
- Kumar, K., Ganesan, K., Selvaraj, K. ve Rao, P., 2014. Studies on the functional properties of protein concentrate of *Kappaphycus Alvarezii* (Doty) Doty-An edible seaweed, *Food Chemistry*, 153, 353-360.
- Kumar, M., Sun, Y., Rathour, R., Pandey, A., Thakur, I. ve Tsang, D., 2020. Algae as potential feedstock for the production of biofuels and value-added products: Opportunities and challenges, *Science of The Total Environment*, 716, 137116.
- Lim, H. ve Teo S., 2015. Comparison of protein extraction protocols for proteomic analysis of red algae, *eucheuma cottonii*, *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 38, 279-293.
- Lohrmann, L., Logan, A. ve Johnson, S., 2004. Seasonal acclimatization of antioxidants and photosynthesis in *Chondrus crispus* and *Mastocarpus stellatus*, two co-occurring red algae with differing stress tolerances. *The Biological Bulletin*, 207, 225-232.
- López, A., Verbelen, J. P., Bocanegra, J. A. ve Diez, J., 1991. Immunocytochemical localization of nitrite reductase in green algae, *Plant Physiology*, 96, 699-704.
- Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, L. ve Randall, R., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent, from *The Department of Pharmacology*, 1, 266-275.
- Madsen, M. ve Chronakis, I., 2011. *Algal Proteins*, 352-394, Denmark.
- Mahardika, A., Susanto, A., Pramesti, R., Matsuyoshi, H., Adriana, B., Matsude, Y. ve Sato, H., 2019. Application of imaging Raman spectroscopy to study the distribution of *Kappa* carrageenan in the seaweed *Kappaphycus alvarezii*, *Journal of Applied Phycology*, 31, 1383-1390.
- Mallick, N., 2002. Biotechnological Potential of Immobilized Algae for Wastewater N,P and Metal removal: A review, *Biometals*, 15, 377-390.
- Massarani, S., 2014. Phytochemical and biological properties of sesquiterpene constituents from the marine red Seaweed *Laurencia*: A Review, *Natural Products Chemistry and Research*, 2, 2-5.
- Matsukawa, R., Dubinsky, Z., Kishimoto, E., Masaki, K., Masuda, Y., Takeuchi, T., Chihara, M., Yamamoto, Y., Niki, E. ve Karube, I., 1997. A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds, *Journal of Applied Phycology*, 9, 29.
- McHugh, J., 2003. A guide to the seaweed industry, *FAO fisheries technical paper*, 441-105.

- Monla, R., Salma, Y., Kouzayha, A., Gali-Muhtasib, H., Dassouki, Z. ve Mawlawi, H., 2021. Antioxidative, cytotoxic, and anti-metastatic potentials of *Laurencia obtusa* and *Ulva lactuca* seaweeds. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 11, 308.
- Morr, V., German, B., Kinsella, J. E., Regenstein, J. M., Buren, J. V., Kilara., 1985. Collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure, Journal of Food Science, 50, 1715-1718.
- Muraguri, E., 2017. Chemical composition of selected seaweeds and their utilization in chicken sausages, Yüksek Lisans, Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology, Juja Kenya.
- Naseri, A., Marinhos, G., Holdt, S., Bartela, M. ve Jacobsen, C., 2020. Enzyme-assisted extraction and characterization of protein from red seaweed *Palmaria palmata*, Algal Research, 2211-9264.
- Ordenez, A., Wright, J. ve Olff, H., 2010. Functional differences between native and alien species: a global-scale comparison. Functional Ecology, 24, 1353-1361.
- Öğretmen, Ö., 2015. Kırmızı Yosun (*Gelidium Latifolium*, Bornet Ex Hauck 1883)'dan üretilen agar agarın mevsimsel kalitesinin belirlenmesi, Doktora Tezi, Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sinop.
- Özdemir, N. ve Erkmen, J., 2013. Yenilenebilir biyoplastik üretiminde alglerin kullanımı, Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi, 3, 89-104.
- Patil, S., Sandberg, A., Heckert, E., Self, W. ve Seal, S., 2007. Protein adsorption and cellular uptake of cerium oxide nanoparticles as a function of zeta potential, Biomaterials, 28, 31, 4600-4607.
- Ranga, R., Sarada, R., Baskaran, V. ve Ravishankar, G., 2009. Identification of carotenoids from green alga haematococcus pluvialis By HPLC and LC-MS (APCI) and their antioxidant properties, Journal of Microbiology and Biotechnology, 19, 1333-1341.
- Robledo, D. ve Pelegrin, F., 1997. Chemical and mineral composition of six potentially edible seaweed species of Yucatan.
- Rosemary, T., Arulkumar, A., Paramasivam, S., Mondragon-Portocarrero, A. ve Miranda, J., 2019. Biochemical, micronutrient and physicochemical properties of the dried red seaweeds *Gracilaria Edulis* and *Gracilaria Corticata*, Molecules, 24, 2225.
- Rouxel, C., Bonnabeze, E., Daniel, A., J'érôme, M., Etienne, M. ve Fleurence, J., 2001. Species identification By SDS-PAGE of redalgae used as seafood or a food ingredient, Food Chemistry, 74, 349-353.
- Sasa, A., Şentürk, F., Üstündağ, Y. ve Erem, F., 2020. Alglerin gıda veya gıda bileşeni olarak kullanımı ve sağlık üzerine etkileri, Uluslararası Mühendislik, Tasarım ve Teknoloji Dergisi, 2, 97-110.

- Schilp, S., Rosenhahn, A., Pettitt, M. E., Bowen, J., Callow, M. E., Callow, J. A. ve Grunze, M., 2009. Physicochemical Properties of (Ethylene Glycol)-Containing Self-Assembled Monolayers Relevant for Protein and Algal Cell Resistance, *Langmuir*, 25, 10077-10082.
- Shao, Y. ve Kao, Y., 2014. Foaming properties of soy protein isolates and concentrates. In *Int. Conf. Food Secur*, 67, 56-59.
- Skrede, A., Mydland, T., Ahlstrøm, Ø., Reitan, K., Gislerød, H. ve Øverland, M., 2011. Evaluation of Microalgae As Sources of Digestible Nutrients for Monogastric Animals, *Journal Of Animal and Feed Sciences*, 20, 131-142.
- Song, T., Liu, L., Tang, Q., Xiang, S., Wang, B., Zhang, S., Wang, X., Chu, Y., Luo, D. ve Lin, J., 2022. Antioxidant Neogargarooligosaccharides (Naos) and Dietary Fiber Production From Red Algae *Gracilariopsis Lemaneiformis* Using Enzyme Assisted One-Step Process, *Food Hydrocolloids*, 125, 107382.
- Souza, B., Andrade, F., Teixeira, D., Mansilla, A. ve Freitas, A., 2010. Haemagglutinin of The Antarctic Seaweed *Georgiella confluens* (Reinsch) Kylin: İsolation and Partial Characterization, *Polar Biology*, 33, 1311-1318.
- Şengör, F., 2001. Deniz Algleri'nin Gıda Endüstrisi'nde Kullanımı. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18-1.
- Tan, S. H., Mailer, R. J., Blanchard, C. L. ve Agboola, S. O., 2014. Emulsifying properties of proteins extracted from Australian canola meal. *LWT-Food Science and Technology*, 57, 376-382.
- Taşkın, E. ve Çakır, M., 2022. Marine Macroalgal Flora on The Aegean and The Levantine Coasts of Turkey, *Botanica Marina*.
- Tekin, K., Akalın, K. ve Şeker, M. G., 2015. Ultrasound bath-assisted extraction of essential oils from clove using central composite design, *Industrial Crops and Products*, 77, 954-960.
- Toor, K. ve Savage G., 2006. Changes in major antioxidant components of tomatoes during post-harvest storage. *Food Chemistry*, 99, 724-727.
- Topuz, O., Gökoğlu, N., Yerlikaya, P., Uçak, İ. ve Gümüş, B., 2015. Optimization of antioxidant activity and phenolic compound extraction conditions from red seaweed (*Laurencia obtusa*), *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 3, 25, 414-422.
- Torres, P., Santos, J., Chow, F. ve Dos Santos D., 2019. A comprehensive review of traditional uses, bioactivity potential, and chemical diversity of the genus *Gracilaria* (Gracilariales, Rhodophyta), *Algal Research*, 37, 288-306.
- Vilg, J. ve Undeland, I., 2017. Ph-driven solubilization and isoelectric precipitation of proteins from the brown seaweed *saccharina Latissima* - Effects of osmotic shock, water volume and temperature, *Journal of Applied Phycology*, 29, 585-593.

- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L. ve Bates, D., 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - a review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 161-169.
- Wang, F., Guo, X., Zhang, D, Wu, Y., Wu, T. ve Chen, Z., 2015. Ultrasound-assisted extraction and purification of taurine from the red algae, *Porphyra yezoensis*, *Ultrason Sonochem*, 36-42.
- Wang, T., Zhang, H., Wang, L., Wang, R. ve Chen, Z., 2015. Mechanistic insights into solubilization of rice protein isolates by freeze–milling combined with alkali pretreatment, *Food Chemistry*, 178, 82- 88.
- Wang, C., Shen, Z., Cui, X., Jiang, Y. ve Jiang, X., 2020. Response surface optimization of enzyme-assisted extraction of r-phycoerythrin from dry pyropia yezoensis, *Journal Of Applied Phycology*, 32, 1429-1440.
- Wells, M., Potin, P., Craigie, J. S., Raven, J., Merchant, S., Helliwell, K., Smith, A., Camire, M. ve Brawley, S. H., 2017. Algae as nutritional and functional food sources: *Journal of Applied Phycology*, 29, 949-982.
- Yavuz, M. ve Özçelik B., 2016. Bitkisel protein izolatlarının fonksiyonel özellikleri, *Akademik Gıda*, 14, 424-430.
- Ye, D., Jiang, Z., Zheng, F., Wang, H., Zhang, Y., Gao, F., Chen, P., Chen, Y. ve Shi, G., 2015. Optimized extraction of Polysaccharides from *Grateloupia livida* (Harv.) Yamada and Biological Activities, *Molecules*, 20, 16817-16832.
- Yıldız, G., Dere, E. ve Dere Ş., 2014. Comparison of the antioxidative components of some Marine Macroalgae from Turkey, *Pakistan Journal of Botany*, 46, 753-757.
- Yüçetepe, A., 2017. *Spirulina Platensis* Proteinleri: Fonksiyonel ve fizikokimyasal özellikleri, anjiyotensin-ı dönüştürücü enzim inhibitor aktivitesi, biyoyararlılığı ve enkapsulasyon çalışmaları, Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Yüçetepe, A., Saroğlu, O., Bildik, F., Özçelik, B. ve Daskaya-Dikmen, C., 2018. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of protein from *Spirulina platensis* using RSM. *Czech Journal of Food Sciences*, 36, 98-108.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Hasret BAŞ YILDIRIM

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 2014-2018

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı,
2020-2022

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Sincan Et ve Süt Kurumu/Ankara/Yaz Stajı (2017)
2. Batılar Catering/Aksaray (2018-2019)
3. Sofra Compass Group/Ankara (2019-

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Kongrelerde Sunulan Bildiriler

1. Baş Yıldırım, H., Yücestepe, A., Özçelik, B. ve Okudan, E., 2022. Türkiye’de Ege Denizi kıyılarından toplanan *Laurencia pyramidalis* makroalginden protein ekstraksiyonunun merkezi kompozit dizayn ile yanıt yüzey metodolojisi kullanılarak optimizasyonu: ön çalışma, Ege Üniversitesi 8.Ulusal Tarım Kongresi, Bildiriler Kitabı, 24-25.