



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**TÜRKİYE DENİZLERİNDEN TOPLANAN *Gracilaria dura*
MAKROALGİNDEN KAROTENOİD EKSTRAKTI İLAVELİ
TEREYAĞI ÜRETİMİ: FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ İLE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTE VE OKSİDASYON STABİLİTESİ
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Neşe BALKESEN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Aysun YÜCETEPE

AKSARAY, 2024

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 212324404 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Neşe BALKESEN tarafından hazırlanan “**TÜRKİYE DENİZLERİNDEN TOPLANAN *Gracilaria dura* MAKROALGİNDEN KAROTENOİD EKSTRAKTI İLAVELİ TEREYAĞI ÜRETİMİ: FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ İLE ANTİOKSİDAN AKTİVİTE VE OKSİDASYON STABİLİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Aysun YÜCETEPE

Aksaray Üniversitesi

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

Üye: Doç. Dr. Ayhan DURAN

Aksaray Üniversitesi

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

Üye: Prof. Dr. Sibel ULUATA

İnönü Üniversitesi

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

Tez Savunma Tarihi: 06/06/2024

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.

Neşe BALKESEN

TEŞEKKÜR

Bir birey olarak sahip olduğum tüm fikirlerin ışığı, ulu önder Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK başta olmak üzere,

Tüm yüksek lisans eğitimim boyunca, bana yol gösteren, destek ve emeklerini hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleri ile çalışmama ışık tutan kıymetli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Aysun YÜCETEPE'ye,

Yüksek lisans eğitimim süresince her konuda bana yardımcı olan ve destekleyen çok değerli şube müdürüm Sayın Bayram Ali KESER ve çalışma arkadaşlarıma,

Makroalg örneklerinin toplanmasını sağlayan Sayın Dr. Öğretim Üyesi Emine Şükran OKUDAN'a, laboratuvar çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen Gamze SARIBAŞ ve Mustafa Enes ARSLAN'a,

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, hiçbir fedakarlıktan kaçınmadan beni destekleyen, dünya görüşü ve insanlığıyla hayattaki rol modelim canım annem Ayşe BALKESEN'e, babam Hüseyin BALKESEN'e ve kardeşim Ogün BALKESEN'e sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasının karotenoid ekstraksiyon kısmı, 221O673 numaralı ve “Türkiye Denizlerinden Toplanan *Gracilaria dura*, *Sargassum acinarium* ve *Ulva rigida* Makroalglerinden Karotenoidlerin Ultrases prob Destekli Enzimatik Ekstraksiyonu ve Karotenoid Profillerinin Belirlenmesi: Nanoemülsiyonu, in vitro Biyoerişebilirliği ve Depolama Stabilitésinin Araştırılması” başlıklı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle, tezimin gerçekleşmesindeki katkılarından dolayı TÜBİTAK'a çok teşekkür ederim.

Neşe BALKESEN

AKSARAY, 2024

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	4
2.1. Makroalgler	4
2.1.1 Makroalglerin sınıflandırılması.....	5
2.1.2 <i>Gracilaria dura</i>	5
2.2. Makroalglerin kimyasal kompozisyonu	6
2.2.1 Protein içeriği	7
2.2.2 Lipit içeriği.....	7
2.2.3 Polisakkarit içeriği	8
2.2.4 Pigment içeriği	8
2.3 Karotenoidler.....	10
2.3.1 Karotenoidlerin stabiliteleri	11
2.4 Makroalgal karotenoidler	12
2.4.1 Makroalgal karotenoidlerin biyoaktif özellikleri	13
2.4.1.1 Antioksidan aktivite	13
2.4.1.2 Antikanser aktivite	15
2.4.1.3 Antidiyabetik aktivite.....	16
2.4.1.4 Antienflamatuar aktivite.....	17
2.5 Tereyağı.....	18
2.6 Oksidasyon.....	23
2.7 Antioksidanlar	25
2.7.1 Antioksidan aktivite tayini	27
2.7.1.1 ABTS yöntemi	28
2.7.1.2 CUPRAC yöntemi.....	28
2.7.1.3 DPPH yöntemi	28
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1 Makroalgin toplanması ve hazırlanması	29
3.1.1 <i>Gracilaria dura</i> 'dan karotenoidlerin ekstraksiyonu	31
3.1.2 Ekstraktların toplam karotenoid miktarı/ekstraksiyon verimi	33
3.2 Tereyağı üretimi	34
3.3 Fizikokimyasal özelliklerin belirlenmesi	36
3.3.1 pH ölçümü.....	36
3.3.2 Titrasyon asitliği	36
3.3.3 Lipofilik fraksiyonların ekstraksiyonu.....	36
3.3.4 Oksidatif stabilitenin belirlenmesi	37
3.3.4.1 Peroksit sayısı analizi.....	37
3.3.4.2 TBARS değerlerinin belirlenmesi.....	37
3.3.5 Antioksidan aktivite tayini	38
3.3.5.1 ABTS metodu	38

3.3.5.2 CUPRAC yöntemi.....	38
3.3.5.3 DPPH metodu	38
3.4 Deney tasarımı ve istatistiksel analiz	39
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	40
4.1 <i>Gracilaria dura</i> 'dan karotenoidlerin ultrases prob destekli ekstraksiyonu	40
4.1.1 Tuz konsantrasyonunun etkisi.....	40
4.1.2 <i>Gracilaria dura</i> 'dan karotenoidlerin ekstraksiyonunda Viscozyme L ve hemiselülaz enzimlerinin etkisi.....	41
4.2 Tereyağı örneklerinin kimyasal özelliklerin analizi	43
4.2.1 pH.....	43
4.2.2 Titrasyon asitliği	44
4.3 Oksidatif stabiliteinin belirlenmesi analizleri	46
4.3.1 Peroksit değeri.....	46
4.3.2 TBARS analizi	47
4.4 Antioksidan aktivite analiz sonuçları	49
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ.....	75

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TÜRKİYE DENİZLERİNDEN TOPLANAN *Gracilaria dura* MAKROALGİNDEN KAROTENOİD EKSTRAKTI İLAVELİ TEREYAĞI ÜRETİMİ: FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ İLE ANTİOKSİDAN AKTİVİTE VE OKSİDASYON STABİLİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Neşe BALKESEN

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Aysun YÜCETEPE

ÖZET

Sunulan tez çalışması kapsamında, kırmızı bir makroalg olan *Gracilaria dura*'dan karotenoid ekstraktı ilaveli tereyağının depolama süresince fizikokimyasal özellikleri ile antioksidan ve oksidasyon stabilitesindeki değişim araştırılmıştır. Bu amaçla kontrol (*G.dura* karotenoid ekstraktı içermeyen) ve farklı oranlarda (%1, %3 ve %5) *G. dura* karotenoid ekstraktı ilaveli tereyağı örnekleri hazırlanmıştır. Tereyağı örnekleri +4 °C'de muhafaza edilerek depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde pH, titrasyon asitliği, peroksit değeri (PV), tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) değeri ve antioksidan aktivite (AOA) analizleri yapılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, tereyağı örneklerinin karotenoid miktarı arttıkça pH değerinin ve AOA arttığı, PV ve TBARS değerlerinin azaldığı görülmüştür ($p<0,05$). Tüm tereyağı örneklerinin, en yüksek titrasyon asitliği değerine depolamanın 1. gününde ulaşılmıştır. Tereyağlarında lipit oksidasyonunun azalması ile oksidasyon stabilitesi artmıştır. Diğer taraftan, depolamanın 7., 14. ve 21. günlerinde karotenoid içermeyen kontrol örneklerinin %1, %3, %5 *G. dura* ekstraktı ilaveli örneklerle kıyasla TBARS değerleri daha yüksek çıkmıştır ($p<0,05$). Ayrıca, %5 *G. dura* karotenoid ekstraktı ilaveli tereyağında AOA en yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Sonuçlar, *G. dura* karotenoid ekstraktı bir doğal antioksidan olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Tereyağı, oksidasyon, *Gracilaria dura*, karotenoid, antioksidan.

Haziran, 2024; 75 sayfa

M.Sc. THESIS

PRODUCTION OF BUTTER WITH ADDED CAROTENOID EXTRACT FROM *Gracilaria dura* MACROALGAE COLLECTED FROM THE SEA OF TÜRKİYE: INVESTIGATION OF EFFECTS ON PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND OXIDATION STABILITY

Neşe BALKESEN

Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Aysun YÜCETEPE

ABSTRACT

In the present thesis, changes in physicochemical properties, antioxidant activity and oxidation stability of butter added carotenoid extract from *Gracilaria dura*, which is a red macroalgae, were investigated during storage. For this purpose, butter samples (control) without *G. dura* carotenoid extract and with *G. dura* carotenoid extract in different ratios (1%, 3% and 5%) were prepared. The samples were stored at +4 °C and pH, titratable acidity, peroxide value (PV), thiobarbituric acid reagents (TBARS) and antioxidant activity (AOA) analysis were performed on the 1st, 7th, 14th, 21st days of storage. According to the results of the study, an increase in carotenoid content of butter samples caused an increase in pH and AOA values and a decrease in PV and TBARS values ($p<0.05$). The highest titratable acidity value of all butter samples was reached on the 1st day of storage. Oxidation stability increased with the decrease of lipid oxidation in butter. On the other hand, on the 7th, 14th and 21st days of storage, TBARS values of control samples without carotenoids were higher compared to samples with 1%, 3% and 5% *G. dura* extract added ($p<0.05$). Moreover, AOA of butter sample with 5% *G. dura* extract was found to be highest ($p<0.05$). The results showed that *G. dura* carotenoid extract could be used as a natural antioxidant.

Keywords: Butter, oxidation, *Gracilaria dura*, carotenoid, antioxidation.

June, 2024; 75 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. <i>Gracilaria dura</i> 'nın toplandığı istasyonların harita üzerinde gösterimi. ..	30
Şekil 3.2. Alg toplama çalışmalarından görüntüler.	30
Şekil 3.3. Tereyağı üretim aşamaları.	35
Şekil 3.4. Paketlenmiş tereyağı örnekleri.	35
Şekil 4.1. CUPRAC antioksidan tayin yönteminde oluşan bulanıklık.	49



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bazı makroalglerde bulunan karotenoidler ve miktarları (mg/g).	9
Çizelge 2.2. Bazı makroalglerde bulunan karotenoidler ve biyoaktif özellikleri. ..	18
Çizelge 3.1. <i>Gracilaria dura</i> 'dan karotenoidlerin birinci ekstraksiyonunda merkezi kompozit tasarım temelli deney tasarımında bağımsız değişkenlerin kodlanmış ve gerçek değerleri.....	31
Çizelge 3.2. <i>Gracilaria dura</i> 'dan karotenoidlerin ikinci ekstraksiyonunda merkezi kompozit tasarım temelli deney tasarımında bağımsız değişkenlerin kodlanmış ve gerçek değerleri.....	32
Çizelge 3.3. <i>Gracilaria dura</i> üçüncü karotenoid ekstraksiyonunda uygulanan bağımsız değişkenler ve seviyeleri.....	33
Çizelge 3.4. <i>Gracilaria dura</i> dördüncü karotenoid ekstraksiyonunda uygulanan bağımsız değişkenler ve seviyeleri.....	33
Çizelge 4.1. <i>Gracilaria dura</i> makroalginden karotenoid ekstraksiyonunda üçüncü ekstraksiyonun deney koşulları ve karotenoid miktarı (mg β -karoten/kg k.m.).	40
Çizelge 4.2. <i>Gracilaria dura</i> makroalginden karotenoid ekstraksiyonunda dördüncü ekstraksiyonun deney koşulları ve karotenoid miktarı (mg β -karoten/kg k.m.).	42
Çizelge 4.3. Tereyağı örneklerinin depolama süresince pH değerlerindeki değişim.	43
Çizelge 4.4. Tereyağı örneklerinde depolama süresince belirlenen titrasyon asitliği (% laktik asit) miktarları.	45
Çizelge 4.5. Tereyağı örneklerinin depolama süresince peroksit değerlerindeki değişim (mek O ₂ /kg yağ k.m.).	47
Çizelge 4.6. Tereyağı örneklerinin depolama süresince TBARS değerlerindeki değişim (mg malonaldehit/kg yağ k.m.)......	48
Çizelge 4.7. Tereyağı örneklerinin depolama süresince antioksidan aktivitelerindeki değişim (mg TE/g yağ).....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

ARA	Araşidonik asit
ABTS	2,2-Azinobis (3-etilbenzothiazolin-6-sulfonik asit)
ADE	Anjiyotensin-I-dönüştürücü enzim
ANOVA	Varyans Analizi
AOA	Antioksidan Aktivite
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
CUPRAC	Kuprik iyon indirgeme antioksidan kapasite
DPPH	2,2-difenil-1 pikrilhidrazil
EDTA	Diamintetraasetik asit
EPA	Eikosapentaenoik asit
FAO	Gıda ve Tarım Organizasyonu
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GT1	%1 <i>Gracilaria dura</i> ekstraktı ilaveli tereyağı
GT3	%3 <i>Gracilaria. dura</i> ekstraktı ilaveli tereyağı
GT5	%5 <i>Gracilaria dura</i> ekstraktı ilaveli terayağı
HAT	Hidrojen atom transferi
IFAD	Uluslararası Tarım ve Kalkınma Fonu
K	<i>Gracilaria dura</i> karotenoid ekstraktı ilavesiz kontrol tereyağı
MDA	Malonaldehit
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri
PG	Propil galat
PUFA	Polyunsaturated fatty acid
PV	Peroksit değeri
ROS	Reaktif oksijen türleri
RSM	Response surface methodology
R²	Belirleme katsayısı
SET	Elektron atom transferi
TBARS	Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri
TBHQ	Tertiaribütil hidrokuinon
TE	Troleks eşdeğeri
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
UV	Ultraviyole
YÇP	Yeşil çay ilaveli tereyağı
WFP	Dünya Gıda Programı
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun 2050 yılında 9,8 milyardan fazla olacağı ve bu hızlı artışın önümüzdeki yıllarda insanlığın ve gezegendeki çoğu organizmanın varlığını riske atacak gıda krizine, küresel ısınmaya, zehirli gaz emisyonuna ve şiddetli iklim değişikliğine neden olabileceği öngörülmektedir (Zhu vd., 2016; Rebello vd., 2010). Ayrıca, Uluslararası Tarım ve Kalkınma Fonu (IFAD), Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Dünya Gıda Programı (WFP) tarafından hazırlanan “Dünyada Gıda Güvenliği ve Beslenmenin Durumu Raporu”, 2019 yılında neredeyse 690 milyon insanın, yani dünya nüfusunun yaklaşık yüzde 8,9'unun yetersiz beslendiğini göstermektedir (Bongaarts, 2021). Bu noktada, alternatif ve sürdürülebilir gıda kaynaklarının bulunması büyük önem arz etmektedir. Alglerin ekilebilir araziye ihtiyaç duymamaları ve minimum besin maddesi ile büyüebilmeleri nedeni ile geleneksel gıdalara iyi bir alternatif olabileceği düşünülmektedir (Norsker vd., 2011).

Algler taksonomik olarak mikroalgler ve makroalgler olarak sınıflandırılırlar (El Gamal, 2010). Makroalgler pigment yoğunluğuna göre, Chlorophyta (yeşil alg), Phaeophyceae (kahverengi alg) ve Rhodophyta (kırmızı alg) olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (Wang vd., 2015). Makroalgler polifenoller, pigmentler, flavonoidler, proteinler ve çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) gibi çeşitli bileşikler açısından zengindir (Pal vd., 2014). Bu bileşiklerden pigmentler, flavonoidler, polifenoller antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, antikanser, antidiyabetik, antiinflamatuvar ve antiobezite aktivite gibi biyoaktif özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Polat vd., 2023). Sahip oldukları bu özellikler, makroalgleri gıda ve ilaç takviyesi olarak insan beslenmesindeki değerini artırmaktadır (Musharraf vd., 2012). Bu noktada, kırmızı bir makroalg olan *Gracilaria* spp. biyoaktif özellikler bakımından oldukça zengindir (Torres vd., 2019).

Gracilaria, *Gelidium*, *Kappaphycus* (*Eucheuma*), *Porphyra* ve *Palmaria* olmak üzere beş ana yenilebilir kırmızı makroalg cinsi tanımlanmıştır. Özellikle *Gracilaria* cinsine ait çok sayıda kırmızı deniz yosunu dünyanın birçok yerinde gıda olarak tüketilmektedir (Norziah ve Ching, 2000). *Gracilaria* türlerine ilişkin raporlar, bunların sağlıklı bir beslenme için gerekli olan yüksek miktarda yağ asitleri, protein,

mineral, vitamin, amino asit ve diyet lifi içerdiğini göstermiştir (Norziah ve Ching, 2000; Wen vd., 2006). Kırmızı bir makroalg olan *Gracilaria dura*, Rhodophyta şubesi, Gracilariaceae ailesi, Gracilariales grubu, Florideophyceae sınıfına aittir (Torres vd., 2019). *G. dura* kuru ağırlıkta %24,30 karbonhidrat, %11,97±0,05 protein, %0,32±0,06 yağ, %45,50±0,73 kül ve %17,93±1,06 ham lif içermektedir (Bozdemir vd., 2022). Genel olarak *Gacilaria* spp., yüksek değerli bileşikler ihtiva etmesi ve antioksidan aktiviteleri sebebiyle gıda sanayisi ve ilaç endüstrisi tarafından kullanılmaktadır (Torres vd., 2019; Debbarma vd., 2016).

Gıdalar, özellikle uzun süreli depolama sırasında lipit oksidasyonuna karşı hassastır (Akbarieh vd., 2022; Lee, 2020). Lipitler hava, ışık ve sıcaklık gibi çevresel faktörlere maruz kaldığında, otooksidasyon reaksiyonları nedeniyle istenmeyen tat, koku, renk değişimleri ve diğer bozulma türleri oluşur. Birincil otooksidasyon ürünleri, tadı veya aroması olmayan hidroperoksitlerdir, ikincil oksidasyon ürünleri ise tespit edilebilir tat ve aromalara sahiptir (Choe ve Min, 2006). Doymuş ve doymamış aldehitler, hidrokarbonlar, alkoller, doymamış ketonlar ve malonaldehitler (MDA) hidroperoksitlerin bozunma ürünleridir (Fox vd., 1995). Ayrıca, ransiditeye yol açan lipit oksidasyonu genellikle gıda ürünlerinin raf ömrünün belirlenmesinde önemli bir faktördür (Mangano vd., 2005). Lipid oksidasyonunu kontrol etmek için oksijene maruziyetinin azaltılması, mevcut yağ asitlerinin doymamışlık derecesinin düşürülmesi ve serbest radikal temizleyici antioksidanların kullanılması dahil olmak üzere birçok farklı yöntem vardır (Wang vd., 2023). Bu teknikler arasında antioksidan kullanımı oksidasyonu geciktirdiği ve gıdaların raf ömrünü uzattığı için en yaygın kullanılan yöntemdir (Leong, 2021).

Yağların stabiliteğini artırmak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır (Ayar vd., 2006). Sentetik antioksidanların teratojenik, mutajenik ve toksik etkileri gibi ciddi olumsuz etkileri bulunmaktadır. Bu durum doğal antioksidanların kullanımları konusunda eğilimi arttırmaktadır (Lourenço vd., 2019).

Bir doğal antioksidant olan karotenoidler, makro ve mikroalgler dışında, fotosentetik bitkiler ve mantarlar tarafından sentezlenen ve çeşitli meyve ve sebzelerin turuncu, sarı ve kırmızı renklerinden sorumlu olan lipofilik bileşiklerdir. Karotenoidler, sentetik pigmentlere yönelik tüketicilerin artan sağlık endişeleri nedeni ile doğal pigmentler

olarak çeşitli alanlarda kullanım potansiyeline sahiptir (Mattea vd., 2009). Örneğin gıda, yem ve kozmetik endüstrilerinde β -karoten, lutein, likopen, astaksantin gibi karotenoidler yaygın olarak kullanılmaktadır (Jaswir vd., 2011). Deepika vd. (2022)'ne göre, β -karoten, astaksantin, lutein, zeaksantin ve likopenin de aralarında bulunduğu toplam 40 karotenoid ticari olarak üretilmektedir. Temel algal pigmentlerden olan β -karoten *Dunaliella salina*'da kuru maddede %14, *Haematococcus pluvialis*'da astaksantin kuru maddede %3 dolaylarında bulunmaktadır (Deepika vd., 2022).

Bu tez çalışmasının amaçları;

- i. Türkiye denizlerinden toplanan *Gracilaria dura* makroalginden karotenoidlerin ultrases prob destekli ekstraksiyonunu gerçekleştirmek,
- ii. Elde edilen algal karotenoid ekstraktlarını %1, 3 ve 5 oranlarında içeren tereyağ örneklerinin hazırlanması.
- iii. Kontrol (karotenoid ekstrakt içermeyen) ve *Gracilaria dura* karotenoid ekstraktlarını (%1, 3 ve 5 oranlarında) içeren tereyağ örneklerinin +4 °C'de 21 gün boyunca depolanarak, depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde pH, titrasyon asitliği, peroksit değeri, tiyobarbitürik asit değeri ve antioksidan aktivitesinin araştırılmasını içermektedir.
- iv. Böylece, en yüksek antioksidan aktivite ve en düşük lipit oksidasyonu düzeyine sahip tereyağ örneklerinin belirlenmesi ve algal karotenoidlerin ürün kalitesine etkisini ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Makroalgler

Deniz yosunları olarak da adlandırılan makroalgler, suda yaşayan besin zincirindeki diğer canlılar için besin kaynağı olan, fotosentez yapan ve okyanuslardaki devasa ormanları oluşturan “thallus” adı verilen yapıları geliştiren ototrofik organizmalardır (Figuerola vd., 2021). Makroalgler, deniz kıyılarında ve nehir ve göl gibi tatlı su ekosistemlerinde bulunurlar (Panzella ve Napolitano, 2017). Yüksek besin içerikleri ve düşük kalori değerlerinden dolayı birçok makroalg türü Çin, Japonya ve Kore gibi pek çok Asya ülkesinde antik zamanlardan beri gıda olarak tüketilmektedir. Diğer taraftan makroalgler, gıda, kimya, tarım, kimya, kozmetik, farmosötik ve tıp gibi alanlarda geniş bir uygulama alanına sahip pek çok değerli bileşenin önemli bir kaynağıdır. Örneğin gıda endüstrisinde, temel olarak karagenan, aljinat, fikokolloit agar gibi teknofonksiyonel polisakkaritlerin kaynağı olarak kullanılmaktadırlar (Pangestuti ve Kim, 2011; Konda vd., 2015; Figuerola vd., 2021; Ślusarczyk vd., 2021).

Makroalglerin bilinen yaklaşık 10.500 türü bulunmaktadır ve bu türler arasında yaklaşık 500 tür yüzlerce yıldır insanlar tarafından ya gıda olarak doğrudan ya da agar ve karragenan gibi bazı bileşenlerinin ekstrakte edilmesi yolu ile dolaylı olarak tüketilmektedir (Chopin ve Tacon, 2021). Makroalglerden 220’den fazla türün yetiştiriciliği yapılmakla birlikte, bunların sadece 20’si FAO’nun FISHSTAT veri tabanında listelenmiştir. FAO’nun 2018 yılı verilerine göre 8 tür tüm yetiştiriciliği yapılan makroalg üretiminin %96,8’ini oluşturmaktadır. Bu türler; kombu olarak da bilinen *Saccharina japonica* (%35,3), *Eucheuma* spp. (%29), *Gracilaria* spp. (%10,7), *Porphyra* spp. ve nori olarak da bilinen *Pyropia* spp. (%8,9), wakame olarak da bilinen *Undaria pinnatifida* (%7,2), *Kappaphycus* spp. (%4,9) ve *Sargassum* spp. (%0,8)’dir (FAO, 2020). Yetiştiriciliği yapılan makroalglerin üretimi; 2000 yılından (10,6 milyon ton) 2005 yılına (14,8 milyon ton) %40,0, 2010 yılına (20,2 milyon ton) %36,0 ve 2015 yılına (31,1 milyon ton) %53,4 artmıştır. Diğer taraftan, 2018 yılında yetiştiriciliği yapılan (31,5 milyon ton) ve toplanan (0,9 milyon ton) makroalg miktarı ise toplam 32,4 milyon tondur (Chopin ve Tacon, 2021). Ayrıca, FAO’ya göre yetiştiriciliği yapılarak üretilen makroalglerin 13,3 milyar dolarlık bir ekonomik değeri bulunmaktadır (FAO, 2020).

2.1.1 Makroalglerin sınıflandırılması

Makroalgler sahip oldukları fotosentetik pigmentasyona göre kırmızı makroalg (*Rhodophyta*), kahverengi makroalg (*Phaeophyta*) ve yeşil makroalg (*Chlorophyta*) olmak üzere üç grup altında toplanmaktadır (Wang vd., 2015). Kırmızı makroalglerin fotosentetik hücrelerinde genellikle fazla miktarda fikoeritrin kırmızı pigmentleri bulunmaktadır. Bu kırmızı pigment, diğer çeşitli pigmentlerle kombinasyon halinde, yarı saydam soluk pembe, lavanta, mor, kestane ve bordodan yanardöner maviye kadar geniş bir renkten sorumludur. Kahverengi makroalgler ise fazla miktarda bir kahverengi pigment olan fukoksantin içermektedir. Aljinik asit ve fukoidin gibi önemli bileşenleri içeren selüloz duvarları vardır. Neredeyse tüm kahverengi alglerin yüzeylerinde, besin alımı için yüzey alanını artırmaya hizmet edebilecek ince (mikroskobik) tüyler bulunmaktadır (Litter ve Litter, 2013). Diğer taraftan, yeşil makroalgler baskın pigment olarak klorofil içerirler (Dawes, 1998). Yeşil algler aynı zamanda ikinci düzeyde karotenoid pigmentlerini ihtiva ederler (Hoek vd., 1995).

2.1.2 *Gracilaria dura*

Gracilaria Greville cinsi (Gracilariales, Rhodophyta), 160'ı taksonomik olarak kabul edilmiş 300'den fazla türe sahip bir makroalg grubudur. Bu cinse ait makroalgler, endüstriyel ve biyoteknolojik kullanımlar açısından önemlidir ve ticari açıdan değerli biyokütleden yüksek verim elde etme yetenekleri nedeniyle ekonomik açıdan değerli kaynaklar olarak kabul edilir (Capo vd., 1999). *Gracillaria* türleri antimikrobiyal aktiviteye sahip olup, primer bileşenler gibi biyoaktif metabolitler üretmekte ve oksidatif yollarda önemli rol oynayan arilik asit ve eikosonoidler gibi önemli yağ asitlerini içermektedir (Hemmingson vd., 1996; Imbs vd., 2001). Aslında, diğer bileşiklerin yanı sıra, alglerin hücre duvarı ve hücresel arası boşluklarında bulunan ve gıdalar (dondurma, çorba, jöle), bakteriyolojik numuneler ve kozmetiklerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan jelatinimsi, toksik olmayan koloidal bir karbonhidrat olan agar-agar'ın ana kaynağı olan fikokolloidleri de içerir (Ghosh vd., 2022; Kerton vd., 2013). *Gracillaria* küresel agar endüstrisinin en önemli kaynağıdır ve tek başına yıllık hammadde tedarikinin %80'inden fazlasını karşılamaktadır (Bixler ve Porse, 2011).

Kırmızı bir makroalg olan *Gracilaria dura* Rhodophyta şubesi, Gracilariaceae ailesi, Gracilariales grubu, Florideophyceae sınıfına aittir (Torres vd., 2019). *G.dura* kuru ağırlıkta %24,30 karbonhidrat, %11,97±0,05 protein, %0,32±0,06 yağ, %45,50±0,73 kül ve %17,93±1,06 ham lif içerdiği tespit edilmiştir (Bozdemir vd., 2022).

2.2. Makroalglerin kimyasal kompozisyonu

Alglerin yüksek besin ve biyoaktif madde içeriği; karbonhidratlar, proteinler, peptitler, lipitler ve mineraller ile fenoller, alkaloidler, terpenler ve pigmentler gibi çok sayıda molekülü içermesinden kaynaklanmaktadır (Barkia vd., 2019; Kosanić vd., 2015). Makroalgler kuru ağırlıkta %7-31 protein, %2-13 lipit ve %32-60 karbonhidrat içeriğine sahiptir (Kazir vd., 2019). Diğer taraftan, türe bağlı olarak, A, B1, B2, B9, B12, C, D, E ve K vitaminlerini ve kalsiyum, demir, iyot, fosfor, potasyum, bakır, magnezyum, selenyum, çinko, bakır ve florür gibi mineralleri içermektedir (Panzella ve Napolitano, 2017).

Makroalglerin kimyasal bileşimi ışık yoğunluğu, deniz suyunun tuzluluğu ve sıcaklığı gibi çevresel koşullara ve türler arasındaki genetik farklılıklara bağlı olarak değişmektedir (Mæhre vd., 2014). Örneğin sıcaklık, makroalglerin büyümesi, gelişmesi ve bileşenlerin biyosentezi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bazı araştırmacılar su sıcaklığındaki artışın lipit ve protein birikimi üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu ve aynı zamanda karotenoid birikimini de teşvik ettiğini belirtmiştir (Boëchat ve Giani, 2000; Roleda ve Hurd, 2019). Örneğin, haziran ve eylül ayları arasında yetişen makroalglerin kimyasal kompozisyonundaki değişimlerin araştırıldığı bir çalışmada, polifenol içeriğinde (kuru maddede %5,35-6,02'den %14,66-16,80'e), pigment seviyesinde (klorofil içeriğinde kuru maddede %0,13, karotenoid miktarında kuru maddede %0,04) ve doymuş yağ asitlerinde (kuru maddede %3,21) artış meydana gelmiştir. Bu değişimlerin güneşteki fotosentetik aktiviteden ve deniz suyu sıcaklığından kaynaklandığı rapor edilmiştir (Konstantin vd., 2023). Diğer taraftan, aşırı güneş radyasyonu, fotoinhibisyona yol açarak kloroplast lamellerinin tahrip olmasına ve enzim sistemlerinde işlev bozukluğuna neden olabilir. Bu nedenle, makroalgler başta polifenoller olmak üzere foto koruyucu metabolitler üretmektedir (Roleda vd., 2019).

2.2.1 Protein içeriği

Makroalglerin protein içeriği t re göre farklılık göstermektedir. Kahverengi makroalglerin protein düzeyi genel olarak d    k (%3-15), yeşil makroalglerin orta düzeyde (%9-26) olmasına rağmen, kırmızı makroalglerin protein içeriği yaklaşık %47'ye ulaşabilmektedir (Fleurence vd., 2018). Bundan dolayı makroalgler, yüksek protein içeriği nedeniyle sürdürülebilir ve alternatif protein kaynağı olarak değerlendirilmektedir (Biris-Dorhoi vd., 2020). Diğer taraftan, makroalglerin protein içeriği deniz suyu sıcaklığına ve tuzluluğuna, okyanus akıntılarına, dalga koşullarına ve alg türüne bağlı olarak farklıla abilmektedir (Yücetepe vd., 2023). Örneğin Atlantik kıyılarından toplanan *Palmaria palmata* makroalginin protein miktarı deniz suyunun sıcaklığına bağlı olarak %9-25 arasında deği mi tir ve en yüksek değerler kış ve ilkbahar mevsimlerinde elde edilmiştir (Fleurence vd., 2004; Gordalina vd., 2021).

2.2.2 Lipit içeriği

Makroalgler %0,60-4,15 oranında lipit içermektedir (Shannon ve Abu-Ghannam, 2019). Makroalglerin lipit miktarı ve yağ asidi profilindeki farklılıklar çevresel koşullardan ve tür farklılığından etkilenmektedir. Genel olarak kahverengi türlerin yeşil makroalglerle göre daha yüksek lipit içeriğine sahip olduğu ifade edilmiştir (Biancarosa vd., 2018; Jeon vd., 2010). Makroalgler genel olarak d    k lipit içeriğine sahip olmakla birlikte, çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengindir (Pereira, 2018). Makroalglerde bulunan lipitlerin neredeyse yarısı, eikosapentaenoik asit (EPA) ve araşidonik asit (ARA) gibi çoklu doymamış yağ asitlerinden oluşmaktadır. Makroalg lipidleri arasında glikolipitler ve fosfolipitler de bulunmaktadır. Glikolipitler, hücresel membranın temel bileşeni olan bir lipide glikozidik bağ yoluyla bağlanan karbonhidratlardır (Biancarosa vd., 2018; Ma vd., 2014). Fosfolipitler ise tüm biyolojik membran sistemlerinin temel yapıta ıdır ve yalnızca yapısal moleküller olarak değil aynı zamanda hücrelerin dinamik ve işlevsel açıdan önemli bileşenleri olarak da tanımlanırlar (Hanahan ve Nelson, 1984).

2.2.3 Polisakkarit içeriği

Genel olarak makroalgler değişken bir polisakkarit içeriğine sahiptir. Makroalgler yapısal ve enerji depolama dahil olmak üzere önemli işlevlere sahip polisakkaritleri yüksek miktarlarda içerebilmektedir. Makroalglerdeki toplam polisakkarit içeriği kuru maddede %4 ile %76 arasında değişmekte olup en yüksek polisakkarit içeriğine *Ascophyllum*, *Porphyra* ve *Palmaria* spp. makroalgleri sahiptir (Holdt ve Kraan, 2011). Kumar vd. (2021)'ne göre, yeşil makroalgler %17,0-83,2, kahverengi makroalgler %12,5-47,43 ve kırmızı makroalgler %2,7-65,0 oranında karbonhidrat içeriğine sahiptir.

Makroalglerde bulunan polisakkarit fraksiyonlardan biri olan karragenan, kırmızı makroalglerin hücre duvarının ana bileşenlerinden biridir ve kuru alg ağırlığının %30 ile %75'ini oluşturur. Örneğin, *Gracilaria gracilis*'ten elde edilen bir polisakkarit olan agar; gıda, farmosötik ve biyoteknolojik uygulamalarda kullanılmaktadır (Ferreira vd., 2021). Diğer taraftan, başka bir polisakkarit olan aljinatlar ise kuru alg ağırlığının %17 ile %45'ini oluşturan kahverengi makroalglerde hücre duvarının temel bileşenidir. *Ulva* spp. yeşil makroalginin hücre duvarının bir bileşeni olan ulvan polisakkaritleri ise kuru alg kuru ağırlığının %8 ile %29'unu oluşturmaktadır ve çeşitli biyoaktif özelliklerine (antioksidan, anticoagulant, antiviral, antikanser aktivite gibi) rağmen yeterince değerlendirilememektedir (Pradhan vd., 2023; Vera vd., 2011; Ferreira vd., 2021).

2.2.4 Pigment içeriği

Pigmentler, gıdaların renklerinin oluşmasında önemli unsurlardır (Ghosh vd., 2022). Son yıllarda artış gösteren sağlığa dair tüketici endişeleri, son derece yararlı işlevler sergileyerek hem sentetik renklendiricilere alternatif hem de sağlığı teşvik eden bileşenler olarak kabul edilen doğal pigmentleri kullanma eğilimini arttırmaktadır (Ghosh vd., 2022; Hosseinkhani vd., 2022).

Makroalglerde bulunun pigmentler karotenoid, klorofil ve fikobilin (fikobiliprotein)'lerdir. Karotenoidler apolar pigmentlerdir. Yapısal olarak terpenoid pigment sınıfına aittir ve sahip oldukları mor, kırmızı, turuncu ve sarı gibi farklı

renkler yüksek oranda konjuge olan polien zincirinden kaynaklanmaktadır (Poojary vd., 2016). Klorofil; klorofil a, klorofil b ve klorofil c içeren yağ pigmentleri ailesidir. Klorofil pigmenti, yeşil ışığı iyi yansıtabildiğinden genel olarak yeşil görünüm sağlar ve fotosentezin ışık Emilimi sürecinde merkezi bir rol oynamaktadır (Bednarczyk vd., 2021). Fikobilin, yalnızca alglerde bulunan bir fotosentetik pigmenttir. Fikobilin yapısal olarak klorofile benzer ve metilenle bağlanan dört pirol halkasından oluşur, ancak klorofilden farklı olarak düz zincirli bir moleküldür ve magnezyum atomu içermez (Mysliwa-Kurdział ve Solymosi, 2017). Çizelge 2.1’de bazı makroalglerde bulunan karotenoidler ve miktarları verilmiştir.

Çizelge 2.1. Bazı makroalglerde bulunan karotenoidler ve miktarları (mg/g).

Makroalg sınıfı	Makroalg türü	Karotenoid/Klorofil a oranı	Karotenoid/Klorofil b oranı	Fukoksantin	Lutein	Referanslar
Yeşil makroalgler (Chlorophyta)	<i>Caulerpa racemosa</i>	0,02	0,13			Kumar vd., 2009
	<i>Cladophora fascicularis</i>	0,003	0,02			
	<i>Ulva lactuca</i> linn	0,04	0,15			
	<i>Fragilaria crotonensis</i>			33,8		Deventer ve Heckman, 1996
Kahverengi makroalgler (Phaeophyta)	<i>Dictyota bartayresiana</i>	0,04	0,13			Kumar vd., 2009
	<i>Padina gymnospora</i>	0,23	0,75			
	<i>Sargassum ilicifolium</i>	0,05	0,21			
	<i>Padina australis</i>			0,27		Zailanie ve Purnomo, 2011
	<i>Turbinaria conoides</i>			0,21		
Kırmızı makroalgler (Rhodophyta)	<i>Champia compressa</i>	0,07	0,16			Kumar vd., 2009
	<i>Liogora erecta</i>	0,07	0,15			
	<i>Scinaia farcellata</i>	0,03	0,12			
	<i>Soliera robusta</i>	0,04	0,14			
	<i>Amphiroa rigida</i>				5,83	Cikoš vd., 2021

2.3 Karotenoidler

Sekonder metabolitler olarak bilinen karotenoidlerin doğada 750'den fazla türü bulunmaktadır (Shahidi ve Brown, 1998; Ribeiro vd., 2010; Koizumi vd., 2018). Karotenoidler sekiz izoprenoid biriminden oluşan hidrokarbonlardır ve güçlü antioksidatif aktivite sergileyen, konjuge çift bağa sahip, yağda çözünebilen pigmentlerdir (Nakano ve Wiegertjes, 2020). En yaygın karotenoidler, 11 konjuge çift bağ içeren 40 karbonlu izoprenoidlerdir. Çift bağlar, cis ya da trans izomeri oluşturabilmelerine rağmen doğada genellikle trans izomeri formunda bulunmaktadır (Denizci, 1990). Karotenoidlerin renklerini, yapılarında bulunan çok sayıdaki konjuge (C=C) çift bağlar belirler. Bu konjuge çift bağların sayısı arttıkça Karotenoidlerin renkleri koyulaşmaktadır. Yapısında 9 tane konjuge çift bağ içeren β -karotenin rengi sarı-turuncu iken, yapısında 11 tane konjuge çift bağ içeren likopenin rengi kırmızıdır (Özkan ve Cemeroğlu, 1997).

Karotenoidler karoten (likopen, α -karoten, β -karoten gibi) ve ksantofil (astaksantin, fukoksantin, lutein gibi) olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Bilinen ilk sınıf olan karotenler kimyasal yapılarında bulundurdıkları karbon ve hidrojen atomlarına ek olarak likopen, α -karoten, β -karoten ve torulen içerir. Ksantofiller ise karbon ve hidrojen atomuna ek olarak yapılarında oksijen atomunu da bulundururlar. Lutein, astaksantin, zeaksantin, violaksantin ve β -kriptoksantin ksantofil sınıfında yer almaktadır (Mussagy vd., 2019).

Karotenoidler bulundukları kaynakta ya kristal formda ya da yağ asitleri ve proteinler dahil olmak üzere diğer moleküllerle kompleks oluşturmuş olarak bulunurlar (Ribeiro vd., 2010). Örneğin, ksantofiller tipik olarak birçok meyve, çiçek, yumru sebzeler gibi bitki organlarında yağ asitleriyle ester oluşturmuş halde bulunur (Mínguez-Mosquera ve Hornero-Méndez, 1994). Öte yandan bazı karotenoidler, suda çözünen ve karotenoidleri stabilize eden proteinlerle kompleks oluşturabilirler (Bhosale ve Bernstein, 2007). Örneğin likopen; α -karoten, β -karoten ve diğer karotenoidler gibi kloroplastlarda karotenoid-protein kompleksi halinde veya kromoplastlar içinde kristal formda bulunmaktadır (Shi ve Le Maguer, 2000; Parada ve Aguilera, 2007). İnsanlarda bağırsaktan emilen karotenoidlerin %80'den fazlası lipoproteinler tarafından taşınarak yağ dokularında birikir (Parker, 1996).

2.3.1 Karotenoidlerin stabiliteleri

Gıdaların depolanması sırasında, sıcaklık, ışık ve oksijen maruziyeti ile depolama süresi, su aktivitesi ve kullanılan ambalaj malzemesi gibi çeşitli faktörler karotenoidlerde kayıplara neden olabilmektedir (Meléndez-Martínez vd., 2022). Karotenoid miktarlarının, izomerizasyon ve oksidasyondan kaynaklı olarak gıda ürünlerinin ambalajlanması, taşınması, depolanması ve diğer gıda işleme prosesleri sırasında azalabileceği ileri sürülmektedir (Anguelova ve Warthesen, 2000). Örneğin kurutma, meyve suyuna işleme ve soyma işlemleri karotenoidlerde önemli kayıplara neden olabilmektedir. Benzer olarak, García-Alonso vd. (2009) yaptıkları bir çalışmada, domates suyunu Tetrapak® ve cam şişelerde 12 ay boyunca 8, 22 ve 37 °C’de depolamışlar ve likopen, askorbik asit, toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarlarını ölçmüşlerdir. Genel olarak, likopen, toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları, kullanılan ambalaj malzemesine bakılmaksızın, 12 ay boyunca depolama sırasında neredeyse sabit kalmıştır. Bu durum, domates sularının raf ömrü boyunca antioksidan aktivitesini korunduğunu göstermektedir. Diğer taraftan, 37 °C’de depolanan domates sularında toplam antioksidan seviyesinde %10-16 oranında düşüş, cis-izomerlerinde ise artış görülmüştür. Başka bir çalışmada, farklı depolama sıcaklığı (4, 25 ve 40 °C) ve pakitleme (N₂ ve atmosferik hava) koşullarının kurutulmuş kabaklardaki karotenoidlerin parçalanması üzerine etkisi araştırılmıştır (Song vd., 2018). Çalışmanın sonuçlarına göre, depolama süresince luteinde, α-karoten ve β-karotene göre daha düşük düzeyde parçalanma gerçekleşmiştir. N₂ ile paketlenmiş örneklerde β-karotenin, Z-izomerlerinin özellikle 40 °C depolama sıcaklığında daha stabil olduğu rapor edilmiştir. Depolama sırasında oluşan β-karotenin bu Z-izomerlerinin oksidatif reaksiyonlara katıldığı varsayılmaktadır. Diğer taraftan, atmosferik hava ile paketlenen kabak örneklerinde, oksijen varlığı ve sıcaklık ile katalizlenen oksidasyon reaksiyonlarından dolayı daha yüksek oranda bozunma meydana geldiği ifade edilmiştir (Song vd., 2018).

Dondurma işlemi ve antioksidan ilavesi genellikle karotenoidleri korumaktadır (Dugave ve Demange, 2003; Liu vd., 2021). Diğer taraftan, dondurarak depolamada karotenoid stabilitesi, bitki dokularının ve incelenen karotenoidlerin türlerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, polietilen ambalajlardaki

sebzelerin (mısır, havuç, brokoli, ıspanak, bezelye, yeşil fasulye, çilek ve yaban mersini) -27,5 °C’de 90 gün boyunca depolanmaları sırasında β -karoten miktarı, yeşil fasulye ve brokolide değişmeden kalırken, bezelye (%70), ıspanak (%45) ve havuçta (%41) önemli düzeyde düşmüştür. Araştırmacılar bu azalmaların dondurak saklama sırasında gerçekleşen oksidasyon reaksiyonlarından kaynaklandığını belirtmişlerdir (Bouzari vd., 2015). Başka bir çalışmada ise dilimlenmiş havuçları vakum altında poliamid torbalarda, farklı donma sıcaklarında (-15, -18, -30 ve -50 °C) 2 yıl boyunca depolanmışlardır (Behsnilian ve Mayer-Miebach, 2017). Dilimlenmiş havuçların α -karoten, β -karoten ve lutein içerikleri, tüm depolama sıcaklarında 2 yıl boyunca sabit kalırken, yaklaşık 3 ay sonunda ürünlerde %57 seviyelerinde likopen kaybı tespit edilmiştir. Araştırmacılar, likopenin daha düşük stabilitesini, muhtemelen havuçların donmamış fazındaki çözünmüş oksijenin varlığından ve ayrıca likopenin β -karoten ile karşılaştırıldığında oksidasyona ve otooksidasyona girmeye daha yatkın olmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir (Behsnilian ve Mayer-Miebach, 2017). Yapılan bir diğer çalışmada ise pişirme koşullarının depolanan kabaklardaki α -karoten, β -karoten ve toplam karotenoid içeriği üzerindeki etkisi araştırılmıştır (Carvalho vd., 2014). Çiğ kabak numunelerinin karotenoid içeriği kaynamış suda pişirilmiş, buharda pişirilmiş ve şeker ilavesiyle pişirilmiş örnekler ile karşılaştırılmıştır. Buharda pişirilen kabaklarda, diğerlerine göre belirgin şekilde daha yüksek α -karoten, β -karoten ve toplam karotenoid içeriği tespit edilmiştir (Carvalho vd., 2014).

2.4 Makroalgal karotenoidler

Makroalglerde bulunan karotenoidler alglerin pigmentasyon yapılarına göre farklılaşmaktadır. Örneğin yeşil makroalglerde β -karoten, lutein, violaksantin, neoksantin ve zeaksantin en yaygın olarak bulunan karotenoidlerdir. Özellikle zeaksantin alglerde karasal bitkilere kıyasla daha yaygın olarak bulunmaktadır. Kırmızı makroalglerde bulunan baskın karotenoidler ise lutein ve zeaksantin yanı sıra α - ve β -karotenlerdir. Diğer taraftan, kahverengi makroalgler pek çok karotenoidi bol miktarda içermekle birlikte ayrıca fukoksantin, perinidin, diatoksantin, heteroksantin ve siphonaksantin karotenoidlerini ve astaksantin ve kantaksantin gibi karotenoid türevlerinden olan karotenoproteinleri içermektedir (Shahidi ve Brown, 1998; Koizumi vd., 2018). Christaki vd. (2013) genel olarak yeşil makroalglerde α -

karoten, neoksantin, violaksantin, siphonoksantin; kırmızı makroalglerde β -karoten, lutein, zeaksantin ve kahverengi alglerde fukoksantin, β -karoten ve violaksantin karotenoidlerinin bulunduğunu bildirmiştir. Bianchi vd. (1997)'nin çalışmasında ise Baltık Denizi'nden toplanan bazı makroalglerde baskın olan karotenoidler araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; yeşil makroalgler *Cladophora glomerata* ve *Enteromorpha intestinalis*'de; fukoksantin ve zeaksantin belirlenememişken, β -karoten, violaksantin, lutein tespit edilebilmiştir. Kahverengi makroalgler; *Chorda filum*, *Dictyosiphon foeniculaceus*, *Fucus vesiculosus* ve *Pilayella littoralis*'da lutein ve zeaksantin mevcut değilken; fukoksantin, β -karoten, violaksantin belirlenebilmiştir. Kırmızı makroalgler; *Ceramium tenuicorne*, *Furcellaria lumbricalis*, *Phyllophora* spp, *Polysiphonia nigrescens* ve *Rhodomela corifervoides*'de fukoksantin ile violaksantin tespit edilememişken, β -karoten, lutein ve zeaksantin tespit edilebilmiştir. Xie vd. (2020)'nin çalışmasında, kırmızı makroalg *Pyropia yezoensis*'de β -karoten ve zeaksantin konsantrasyonu üzerine ışığın etkisi araştırılmış ve yüksek ışık miktarının, β -karoten ve zeaksantin konsantrasyonlarını arttırdığı rapor edilmiştir. Kanda vd. (2020)'nin çalışmasında ise yeşil makroalg, *Monostroma nitidum*'da ana karotenoidin lutein olduğu ifade edilmiştir. Hu vd. (2008)'nin çalışmasında *Dunaliella salina*'nın karotenoid profili kromatografik teknikler kullanılarak araştırılmıştır. Analiz sonuçlarına göre; bütün-trans-lutein, bütün-trans-zeaksantin, 13- ya da 13'-cis- β -karoten, bütün- trans- α -karoten, 9- ya da 9'-cis- α -karoten, bütün-trans- β -karoten, 9- ya da 9'-cis- β -karoten olmak üzere toplam 290,77 mg/g algal karotenoid tespit edilmiştir.

2.4.1 Makroalgal karotenoidlerin biyoaktif özellikleri

2.4.1.1 Antioksidan aktivite

Hücresel düzeyde, oksidantlar ve antioksidantlar arasında bir denge mevcuttur. Hücreler, serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerden (ROS) kaynaklanan dejeneratif etkilere karşı hücresel antioksidan kapasitesi ile korunurlar. Bir şekilde, homeostasisde dengesizlik olursa, hücrelerde serbest radikallerin ve ROS'un birikmesi söz konusu olabilir ve oksidasyon sırasında hücresel bileşenler olan protein, yağ ve nükleik asitler zarar görmeye başlar. Oksidatif stres olarak tanımlanan, protein, nükleik asit ve hücre zarının, süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($HO^{\bullet}$)

gibi reaktif oksijen türlerine maruz kalmaları sonucu kanser, inme, kalp krizi, diyabet gibi pek çok dejeneratif hastalık ortaya çıkabilmektedir (Yücestepe, 2022). Bu nedenle, yaşam boyunca oksidatif stresi yönetebilmek önemlidir.

Diğer taraftan, oksidasyon gıda sistemlerinde de meydana gelebilmektedir. Özellikle, gıda lipitleri, oksidasyona karşı çok hassastır. Bu noktada, lipit oksidasyonu gıdaların üretimi, depolanması ve dağıtımı sırasında meydana gelen bozunmanın ana sebeplerinden birini oluşturmaktadır. Gıdalarda meydana gelen lipit oksidasyonu ile tat kaybı veya kötü tatların oluşması ile birlikte renk kaybı, besin değeri kaybı ve tüketicilerin sağlığına zararlı olabilecek yan ürünler oluşmaktadır (Maher ve Yamamoto, 2010).

Gıdalarda oksidasyonu geciktirmenin en etkili yollarından biri gıda ürünlerine antioksidanların ilave edilmesidir (Wasowicz vd., 2004). Antioksidan bileşikler, reaktif oksijen türlerinden kaynaklanan zararlı oksidasyon proseslerini önleyebilir, geciktirebilir ya da erteleyebilirler. Böylece, gıdaların raf ömrünü, besin değerini ve kalitesini etkileyerek gıda ürünlerinin depolanmaları sırasında bozunmasını yavaşlatabilirler (Christodouleas vd., 2015).

Karotenoidler biyolojik sistemlerde çeşitli reaktif radikal türlerin etkisiz hale getirilmesinde önemli rol oynarlar (El-Agamey vd., 2004). Koruma mekanizmaları tekli oksijeni söndürme ve serbest radikalleri temizlemeyi içerir ve düşük oksijen ve kısmi basınç altında lipit peroksidasyonunu engellerler (Burton, 1989). Yapılan bir çalışmada, genç sağlıklı yetişkin kadın deneklerde astaksantin olası bağışıklık artırıcı, antioksidan ve antienflamatuar aktivitesi araştırılmış ve astaksantin inflamasyonu azaltabildiği ve bağışıklığı artırabileceği belirtilmiştir (Park vd., 2010).

Makroalg karotenoidlerden fukoksantin, ksantofil sınıfına aittir ve kahverengi makroalglerde yaygın olarak bulunan bir karotenoiddir. Kahverengi makroalg *Sargassum siliquastrum*'dan ekstrakte edilen fukoksantin in vitro olarak güçlü bir antioksidan olduğu ve oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (Heo vd., 2008). Başka bir çalışmada, böbrek epitel hücreleri artan konsantrasyonlarda fukoksantin (5, 50, 100 ve 200 μ M) ile muamele edilmiş ve ardından 24 saat boyunca 50 μ M H_2O_2 uygulanmıştır. Karotenoid ile ön muamelenin, oksidatif maddenin

sitotoksik etkisini doza bağı bir şekilde önleyebildiği ve hücre canlılığını sırasıyla %63,6, %69,4, %78,5 ve %89,2 oranlarında koruyabildiği rapor edilmiştir (Heo ve Jeon, 2009).

2.4.1.2 Antikanser aktivite

Kanser günümüzde, dünyadaki en önemli sağlık sorunlarından biridir. Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi ve radyoterapi kanser hücrelerinin hızlı bir şekilde bölünmesini ve gelişmesini engelleyerek kanserin ölümcül etkisini azaltmak amacıyla uygulanmaktadır (Yüce tepe vd., 2022). Fakat kullanılan bu yöntemler normal hücrelere de zarar verebilmekte ve toksik etkiler gösterebilmektedir (Çetik vd., 2015). Diğer taraftan, birçok çalışmada, doğal antioksidanların kemoterapiye bağı toksik etkileri azalttığı rapor edilmiştir (Christen vd., 2000).

Lutein, α -karoten, β -karoten, astaksantin, fukoksantin gibi bazı karotenoidler, kanserin önlenmesini ve ilerlemesini yavaşlatabilmektedir (Rock vd., 2009). Bu nedenle, son yıllarda, kanserin neden olduğu hasarın ortadan kaldırılmasında anahtar bir faktör olan bağışıklık sistemi mekanizmasının güçlendirilmesini sağlayan antioksidan aktivitedeki karotenoidler ve bunların makroalg gibi doğal kaynaklarına olan ilgi artmaktadır (Das vd., 2007).

Makroalgler, tümör ve farklı kanser türlerinin (meme, kolon, lösemi, vb.) tedavisinde etkili olan önemli biyoaktif bileşenleri içermektedir. Fukoksantin doğada, özellikle deniz ortamında en bol bulunan karotenoidlerden birini temsil etmektedir ve toplam doğal karotenoid üretiminin yaklaşık %10'una oluşturmaktadır (Dembitsky ve Maoka, 2007). Fukoksantin, hücre çoğalmasını önleyici etkisi nedeniyle, araştırılan ilk karotenoid kaynaklarından biridir. Hosokawa vd., (1999)'nın çalışmasında, fukoksantin, lösemi hücreleri (HD-60, HL-60) ve epitelyal kolorektal adenokarsinom hücreleri (Caco-2, DLD-1, HT-29) gibi çeşitli hücre dizileri üzerinde in vitro olarak test edilmiştir ve HL-60 hücreleri 11,3 ve 46,2 μ M fukoksantin ile muamele edildiğinde hücre canlılığı doza bağı olarak güçlü bir şekilde azalmıştır (Hosokawa vd., 1999). Zhang vd., (2008)'nin çalışmasında ise kahverengi makroalg *Laminaria japonica*'den ekstrakte edilen fukoksantin (20 μ M), insan idrar kesesi kanseri hücrelerinin çoğalma oranını büyük ölçüde azalttığı rapor edilmiştir. Başka bir

çalışmada, makroalgal fukoksantin, insan mide adenokarsinomunda hücre canlılığını veya çoğalmasını azalttığı gösterilmiştir (Yu vd., 2018).

2.4.1.3 Antidiyabetik aktivite

Basitçe diyabet olarak adlandırılan diabetes mellitus, insülin salgılanmasındaki kusurlardan kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize bir grup metabolik değişikliktir. Tip I ve Tip II olmak üzere iki tipten oluşmaktadır. Genellikle juvenile diabetes olarak adlandırılan Tip I diyabet, insüline bağımlıdır ve diyabetik popülasyonun yalnızca %5'ini etkilediği bilinmektedir. İnsüline bağımlı olmayan Tip II diyabet ise, genellikle 40 yaş üstü yetişkinlerde gelişebilmektedir. Kronik hipergliseminin, özellikle gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları olmak üzere organlarda uzun süreli hasar, işlev bozukluğu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Mamun-or-Rashid vd., 2014).

Diyabet tedavisinde kullanılan ilaçlar, insülin duyarlılığını iyileştirerek ve üretimini artırarak ve kandaki glikoz miktarını azaltarak diyabeti tedavi etmeyi amaçlamaktadır. Diğer taraftan, bazı bitkilerin de farmakolojik olarak aktif bileşenlerinin hipoglisemik etki ile diyabet gelişiminden sorumlu farklı kan parametrelerinin doğrudan ve dolaylı etkilerini azaltarak antidiyabetik aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir (Mamun-or-Rashid vd., 2014).

Karotenoidlerin antidiyabetik aktivitesi üzerine yapılan bazı çalışmalarda, Tip 2 diyabetin önlenmesi ve tedavisinde karotenoidlerin diyet alımındaki önemi bildirilmiştir (Stahl ve Sies, 2005). Astaksantin, diyabetik nefropatinin ilerlemesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, astaksantin Tip 2 diyabetin kemirgen modelinde renal hücreler üzerinde yararlı etki gösterebileceği ve diyabetik nefropatinin ilerlemesini iyileştirebileceği bildirilmiştir (Naito vd., 2004). Makroalgden izole edilen fukoksantin üzerine yapılan bir çalışmada bu karotenoid uygulaması ile farelerde kan şekeri ve insülin seviyelerinin normale döndürebildiği rapor edilmiştir (Maeda vd., 2009). Jung vd. (2012)'nin çalışmasında, *Eisenia bicyclis* ve *Undaria pinnatifida*'dan izole edilen fikoksantin diyabetin yanı sıra diyabetle ilişkili komplikasyonların yönetimi için terapötik bir ajan olarak potansiyeli ortaya konulmuştur.

2.4.1.4 Antienflamatuar aktivite

Enflamasyon, vücudun bağışıklık sisteminin doku hasarına karşı verdiği olağan bir tepkidir. Küçük polipeptitler olan ve iltihap bölgesinde salınan sitokinler ve diğer araçlar tarafından gerçekleştirilir. Ancak sitokinlerin kontrolsüz ve aşırı üretimi dokulara zarar vererek kalp-damar hastalıkları, romatoid artrit, bronşit ve kanser gibi kronik inflamasyon kaynaklı hastalıklara yol açabilmektedir. Bu nedenle antienflamatuar aktiviteye sahip bileşenler ile enflamasyon araçlarının baskılanması aşırı ve kontrolsüz enflamasyonla ilişkili arterit, hepatit, gastrit, periodantal hastalık, kolit, zatürre ve nöroenflamatuar gibi hastalıkların tedavisinde önemli bir stratejidir (Yücepe, 2022; Vaughan vd., 2013; Pangestuti ve Kim, 2011).

Son yıllarda, astaksantin antienflamatuar aktivitesi nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Astaksantin önleyici etkilerinin, yaygın antienflamatuar ilaç olan prednizol ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, astaksantin 100 mg/kg konsantrasyonda antienflamatuar etkisinin, 10 mg/kg prednizol ilacından daha yüksek olduğu görülmüştür (Ohgami vd., 2003). Başka bir çalışmada, *Haematococcus pluvialis* alginden ekstrakte edilen astaksantin ile beslenen farelerin, mide iltihabı seviyelerinde azalma gözlemlenmiştir ve 10 gün boyunca 200 mg/kg algal ekstrakt ile beslenen fareler, astaksantin ile muamele edilmeyen farelere kıyasla midelerinde önemli ölçüde daha düşük düzeyde iltihaplanma ve mukoza-bakteriyel yük göstermiştir (Bennedsen vd., 2000). Çizelge 2.2’de bazı makroalgal karotenoidlerin biyoaktif özellikleri verilmiştir.

Çizelge 2.2. Bazı makroalglerde bulunan karotenoidler ve biyoaktif özellikleri.

Makroalg	Karotenoid	Biyoaktivite	Referanslar
<i>Iridaea cordata</i>	β -karoten, zeaksantin	Antikanser aktivite	Frassini vd. 2019
<i>Cystosphaera jacquiniotii</i>	β -karoten, zeaksantin, fukoksantin ve violaksantin	Antikanser aktivite	
<i>Desmarestia anceps</i>	β -karoten, fukoksantin ve violaksantin	Antikanser aktivite	
<i>Ulva lactuca</i> , <i>Ulva fasciata</i>	Karotenoid içeren ekstrakt	Antioksidan, antikanser ve antimikrobiyal aktivite	Saeed vd., 2020
<i>Eucheuma denticulatum</i> , <i>Gracilaria tikvahiae</i> , <i>Kappaphycus striatum</i> , <i>Caulerpa lentillifera</i> ve <i>Padina pavonica</i>	Lutein, zeaksantin, beta-karoten ve violaksantin	Antioksidan ve antimikrobiyal aktivite	Othman vd., 2018
<i>Scytosiphon lomentaria</i> , <i>Cystoseira barbata</i> ve <i>Padina pavonica</i>	Karotenoid içeren etanolik ekstrakt	Antioksidan aktivite	İlknur ve Turker, 2018
<i>Caulerpa racemos</i>	Fukoksantin, lutein, astaksantin, kantaksantin, zeaksantin, β -karoten, ve β -kriptoksantin	Antidiyabetik, antiobesize, antienflamatuar ve antioksidan aktivite	Kurniawan vd., 2023
<i>Sargassum siliquastrum</i>	Fukoksantin	Antikanser aktivite	Heo vd., 2008
<i>Conticribra weissflogii</i>	Fukoksantin	Antienflamatuar aktivite	Su vd., 2019
<i>Codium adhaerens</i>	Fukoksantin içeren ekstrakt	Antioksidan aktivite	Radman vd., 2021

2.5 Tereyağı

Tereyağı, suyunun uzaklaştırıldığı inek sütünden elde edilen pastörize kremanın çalkalanması neticesinde üretilen bir süt ürünüdür (Jain vd., 2020). Türk Gıda Kodeksi Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği (Tebliğ No:2005/19)'ne göre tereyağı; ağırlıkça en az %80, en fazla %90 oranında süt yağı, en

fazla %2 oranında yağsız süt kuru maddesi ve en fazla %16 oranında su içeriğine sahip ürün olarak tanımlanmaktadır. Çeşnili tereyağı ise tereyağına çeşitli baharat, meyve ve sebzeler, bal ve/veya diğer gıda maddeleri katılarak çeşnilendirilmesi ile elde edilen, tat ve koku dışındaki diğer özellikleri tereyağı için verilen özellikleri taşıyan ve son üründe süt yağı oranı ağırlıkça en az %75 olan ürün olarak ifade edilmektedir.

Tereyağı, içerdiği yağ asitleri, vitamin ve minerallerin yanı sıra eşsiz ve hoş tadı nedeniyle tüketiciler tarafından tercih edilmektedir (Patange vd., 2013). Yağ asitlerinin bileşimi, tereyağının fiziksel özelliklerini, stabilitesini ve besin değerini belirlemektedir (Grahl-Nielsen, 1999). Tereyağının kendine has aromasını bütirik asit, propiyonik asit ve formik asit gibi bileşenler vermektedir (Jain vd., 2020). İnek sütünün lipit fraksiyonunda, triağılgliceroller (%98), monoağılgliceroller, diağılgliceroller, glikolipitler, eter lipitleri içermeyen yağ asitleri, fosfolipitler ve steroller hakimdir (Sikorski ve Kolakowska, 2010; Hupepertz vd., 2009). Tereyağında yüksek yağ içeriğinin yanı sıra önemli miktarda A vitamini (retinol eşdeğeri) 653,0 µg/100 g, vitamin E (tokoferol eşdeğeri) 2,2 mg/100 g, 183-248 mg/100 g kolesterol ve az miktarda kalsiyum, fosfor, K vitamini 60 µg/100 g, D vitamini 1,2 µg/100 g ve düşük miktarda protein içeriğine sahiptir (McClements, 2015).

Karoten (likopen), A vitamini ve yağda çözünen diğer pigmentler, tereyağına kendine has rengini vermektedir (Queiros vd., 2016). Tereyağının renk ve besinsel özellikleri, hayvanın türü (inek, keçi, koyun veya manda) ve mevsim gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Alganesh ve Yetenayet, 2017). Örneğın, farklı hayvanlardan elde edilen sütlerden üretilen tereyağlarının renk özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, keçi sütünden üretilen tereyağının, inek sütünden üretilen tereyağından daha açık renkte olduğunu tespit etmiştir (Milovanovic vd., 2020).

Lipitler enerji kaynağı olmalarının yanı sıra vücuttaki metabolit akışının düzenlenmesi, ısı yalıtımı, iç yaralanmaların engellenmesi, hücre zarının bir parçası olarak anatomik ve tektonik işlevlerin yerine getirilmesi gibi çeşitli işlevlerin yerine getirilmesine yardımcı olmaktadır (Kubicová vd., 2019). Linoleik ve linoleik asitler bitkisel yağlarda, ARA'ler ise hayvansal yağlarda bulunmaktadır. Bu yağ asitleri insan vücudu tarafından sentezlenemez ve gıda ürünlerinde yetersiz olması durumunda vücutta lipit değişim süreçleri başarısız olmaktadır (Zahorui vd., 2019; Bozhko vd.,

2017). Örneğin, çoklu doymamış yağ asitlerinden olan ARA, linoleik asitten elongasyon ve desatürasyon enzimleri ile sentezlenmektedir. ARA hücre membranında bulunup fosfolipit sentezinin %5-15'inden sorumludur. Bununla birlikte, birçok eikozanoidin biyosentezi araşidonik asit ile başlar (Hendek ve Erdemik, 2012).

Tereyağı süt yağı bileşenleri, doymuş ve doymamış yağ asitleri, triasilgliserol ve kolesterol içermektedir. Tereyağı %61 doymuş yağ asitleri, %33 doymamış yağ asitleri ve %6 diğer yağ asitlerini ihtiva etmektedir (Rios vd., 2014; Mudgil ve Barak, 2020). Bu noktada, tereyağı gibi doymamış yağ asidi içeren lipitler, özellikle uzun süreli depolama sırasında lipit oksidasyonuna karşı hassastır (Akbarieh vd., 2022; Lee, 2020).

Lipit oksidasyon mekanizması başlangıç, gelişme ve sonuç olmak üzere üç aşamadan gerçekleşen ve serbest radikallerin oluşumuna neden olan reaksiyonlar zinciridir (Taub, 1984). Tereyağında depolama boyunca oksijen, ışık, su, enzim, ısı ve mikroorganizma kaynaklı olmak üzere serbest radikaller oluşarak acılaşma, renk ve diğer tat bozuklukları meydana gelmektedir. Hidro karbon zincirindeki doymamış kısımların veya doymamış yağ asitlerindeki çift bağların oksijen ile reaksiyona girmesi ile peroksit ve hidroperoksitler oluşarak yağlarda oksidasyon reaksiyonları oluşmaktadır (Atamer, 1993). Oksijen maruziyetini ve mevcut yağ asitlerinin doymamışlık derecesini azaltmak ve serbest radikal temizleyici antioksidanları kullanmak gibi yollar ile lipit oksidasyonu kontrol altına alınabilir (Wang vd., 2023). Teknikler arasında antioksidan kullanımı, oksidasyonu geciktirmesi ve gıdaların raf ömrünü uzatması nedeniyle en yaygın kullanılan yöntemdir (Leong, 2021). Ancak son yıllarda gıdalara uygulanan propil galat (PG), bütillenmiş hidroksianizol (BHA) ve tersiyer bütillhidrokinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanların potansiyel toksisitesi ve güvenliği konusunda artan endişeler bulunmaktadır (Vanlallawmzuali ve Pushpa, 2021). Bu tür sentetik antioksidanların aşırı ve yanlış kullanımı kanserojeniklik, sitotoksikite, oksidatif stres indüksiyonu ve endokrin bozucu etkilere neden olmaktadır (Xu vd., 2021). Bu nedenle, bu bileşiklere alternatif doğal antioksidanlar konusunda yoğun araştırmalar yapılmaktadır ve bu çalışmalarda, tereyağda ve sade yağda lipit oksidasyonunu geciktirmek için doğal kaynaklı antioksidanların kullanımı

araştırılmıştır (Viana da Silva vd., 2022; Pawar vd., 2012; Van Vanlallawmzuali ve Pushpa, 2021).

Antioksidanlar depolama süresince oksidasyona bağlı olarak gelişen ekşimiş tat ve istenmeyen koku oluşumunu engellemektedir. Diğer taraftan, antioksidanlar oksidasyonu tersine çevirmez veya kokuşmuş ürünleri iyileştiremez. Bu maddeler taze üretilmiş gıdalara oksidasyon süreci başlamadan önce eklenir ve oksidasyonu geciktirir veya önlerler (Karatepe ve Patır, 2012).

Yapılan bir çalışmada, 60 °C’de 21 gün boyunca depolanan doğal antioksidan özellik gösteren ajwa hurma çekirdeği tozu ilaveli tereyağı örneklerinde peroksit değeri, asit değeri ve TBARS değerleri araştırılmıştır. Depolama süresince ajwa hurma çekirdeği tozu içeren tereyağı örneklerinde peroksit değeri, asit değeri ve TBARS değerinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Tereyağı açısından zengin gıda ürünlerine hurma çekirdeği tozu ilavesinin tereyağı stabiletisini ve raf ömrünü uzatacağı rapor edilmiştir (Mansour ve Sindi, 2024).

Alipour vd. (2021) kahverengi bir makroalg olan *Sargassum angustifolium*’dan ekstrakte edilen doğal antioksidan ajanı olan fukoidan (%0,005, %0,1, %0,3 ve %0,5 w/w) ilaveli tereyağlarının 60 gün boyunca depolanması sırasında asit değeri, PV ve antioksidan özellikleri incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, depolama süresince tereyağı örneklerinin titrasyon asitliği artmıştır. Depolamanın 60. gününde kontrol örneğinde $0,40 \pm 0,033$ mg KOH/g tereyağı ile en yüksek asidik değeri ve %0,5 ilaveli tereyağı örneğinde $0,17 \pm 0,0013$ mg KOH/g tereyağı ile en düşük asidik değeri tespit edilmiştir. PV ise 40. güne kadar artmış fakat daha sonra azalmıştır. Kontrol örneğinde 40. günde en yüksek PV (20.71 ± 1.65 mek/kg tereyağı) tespit edilmiş olup, %0,5 ilaveli örnekte en düşük (0.17 ± 0.013 mek/kg tereyağı) değerler bulunmuştur. *S. angustifolium*’dan ekstrakte edilen fukoidon 100 µg/mL konsantrasyonda (56.46 ± 5.27) ve 12.50 µg/mL konsantrasyonda (34.75 ± 3.26) DPPH radikal temizleme etkileri tespit edilmiştir. *S. angustifolium* makroalginden elde edilen fukoidanın antioksidan etkilerinin doza bağımlı olduğu kanısına varılmıştır.

Aydın (2018), +4 °C’de 90 gün boyunca depolanan %2,5; %5; %7,5 ve %10 w/w oranlarında sarımsak ve 50 ppm bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ilaveli tereyağı

örneklerinde depolama süresi boyunca pH değerinin azaldığı ve titrasyon asitliği, asit değeri ve oksidasyonunun ise arttığı tespit edilmiştir. Özkan (2007) ise, *Satureja cilicica* esansiyel yağı (%0,5; %1,0 ve %2,0 w/w) ilaveli tereyağı örneklerini +4 °C ve +20 °C’de 60 gün boyunca depolamış ve antiradikal aktivite IC₅₀’i 32,02±0,58 µg/mL ve *in vitro* antioksidan kapasiteyi 101,16±3,32 µg/ML olarak bulmuştur. Tereyağındaki esansiyel yağın konsantrasyonu arttıkça antioksidan aktivitesi de artmıştır. Ayrıca, depolama süresince örneklerin peroksit değerleri artmıştır. *S. cilicica* esansiyel yağının tereyağında hem doğal antioksidan hem de aroma maddesi olarak kullanılabileceği kanısına varılmıştır (Özkan, 2007).

Yapılan başka bir çalışmada tarçının (*Cinnamomum verum*) %1, %3 ve %5 (w/w) oranlarında ilaveli tereyağlarında, +4 °C’de 8 haftalık depolama süresi boyunca peroksit değeri, serbest yağ asiti değeri ve pH değeri ölçülmüştür. Çalışmanın sonuçlarına göre, %3 tarçın ilaveli tereyağında toplam fenolik içerik 135,62±1,00 µg GAE/mg ve serbest radikal temizleme aktivitesi DPPH %38,73±0,01 olarak tespit edilmiştir. Tarçının antioksidan aktivitesinin tereyağının raf ömrünü arttırdığı ve %3 tarçın ilaveli tereyağının antioksidan aktivite açısından zengin bir tereyağı formüle etmek için kullanılabılır olabileceği rapor edilmiştir (Vidanagamage vd., 2016).

Badem kabuğu ekstraktının (*Prunus dulcis*), 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm ve 400 ppm ilavesi ile peyniraltı suyundan elde edilen tereyağının 90 gün depolanması sırasında peroksit değerinin 90 gün boyunca tüm örneklerde arttığı, depolama sonunda 400 ppm badem kabuğu ekstraktı ilaveli tereyağında kontrol örneğinde PV’nin sırasıyla 0,62 mek O₂/kg ve 1,59 mek O₂/kg olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan, tereyağ örneklerinin duyusal özellik açısından kontrol örneğinden farklı olmadığı rapor edilmiştir (Nadeem vd., 2015).

Çakmakçı vd. (2014) çörekotu (*Nigella sativa* L.) uçucu yağının tereyağının stabilitesi üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, tereyağına ilave edilen %0,05, %0,1 ve %0,2 (w/w) çörekotu uçucu yağı ve 100 ppm sentetik antioksidan (BHT) içeren tereyağı örnekleri 90 gün boyunca +4 °C ’de depolanmış ve çörekotu yağı içeren tüm örneklerin PV ve TBARS değerlerinin konsantrasyona bağlı olarak azaldığı bildirilmiştir. BHT ile %0,2 uçucu yağ içeren tereyağı hemen hemen eşit güçte antioksidan aktivite göstermiştir. Analiz sonuçlarından sonra çörekotu uçucu yağının,

yeni bir doğal antioksidan kaynağı olarak kabul edilebileceği kanısına varılmıştır (Çakmakçı vd., 2014).

Tereyağı örneklerine (%1, %3 ve %5, w/w) yeşil çay pudrası (YÇP) ve sentetik antioksidan BHT (100 ppm) ilavesinin +4 °C, 4 ay boyunca depolaması sırasında tereyağını oksidatif stabilitesi ve antioksidan özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Tereyağı örneklerinin pH, asitlik, PV, TBARS değeri ve β -karoten miktarı incelenmiştir. Örnekler arasında en düşük peroksit değeri BHT ilaveli örnekte tespit edilmiştir. Bu sonucun BHT'nin güçlü bir antioksidan olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. BHT'ye en yakın PV %3 YÇP ilaveli örnekte belirlenmiştir. Depolama süresince pH düşmüş, %asitlik ve PV ise yükselmiştir. TBARS değeri ise özellikle 60. günden sonra artmıştır (Çakmakçı vd., 2018).

2.6 Oksidasyon

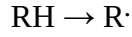
Oksidasyon, maddelerden elektron ve hidrojen atomunu oksitleyici bir maddeye transfer eden kimyasal bir reaksiyondur (Ames vd., 1993). Çoğu gıda kolaylıkla oksidasyona uğrayabilen çeşitli organik bileşiklerden oluşmaktadır. Lipitler de (katı yağlar, sıvı yağlar ve vaks) bu bileşiklerden olup genel olarak elektron kaybetme eğilimine sahiptir. Gıdalardaki lipitlerin otooksidasyonu ışık, ısı, iyonlaştırıcı radyasyon, metal iyonlarına maruz kalma ile tetiklenen gıdanın rengi, tadı, dokusu, kalitesi ve güvenliği üzerinde bozucu bir etki yaratabilir. Gıdalarda bulunan yağlar kimyasal olarak trigliseritlerden oluşmaktadır ve oksidasyon, trigliseritlerin doymamış yağ asitlerinde meydana gelmektedir (Grabowski vd., 2018; Shahidi ve Zhong, 2010; Wu vd., 2017; Angelo vd., 1996).

Lipit oksidasyonu serbest radikalleri ve/veya diğer reaktif türleri içeren otooksidasyon, fotooksidasyon, termal oksidasyon ve enzimatik oksidasyon yoluyla gerçekleşebilir (Shahidi, 2000; Vercellotti vd., 1992). Atmosferdeki oksijenin lipitlerle kendiliğinden reaksiyonu olarak tanımlanan otooksidasyon, gıda ve biyolojik sistemlerde oksidatif bozulmaya/hasara yol açan en yaygın süreçtir (Shahidi ve Zong, 2005). Serbest yağ asitleri ve polar maddelerin oluşumu, köpüklenme, renk ve viskozitenin artmasıyla birlikte termal oksidasyon olarak adlandırılan derin yağda kızartma sırasında deneyimlendiği gibi daha yüksek sıcaklıklarda süreç hızlanabilir (Perkins, 1992).

Fotooksidasyon, ışığa duyarlılaştırıcının uyarılmasını ve lipid moleküllerine veya oksijene enerji transferini içerir. Lipoksigenaz gibi enzimler ayrıca yağ asitlerinin oksidasyonunu katalize eder ve genellikle gıdanın ısıl işlemiyle etkisiz hale getirilir. Lipid oksidasyonunun serbest radikal (lipid radikalleri, $R\cdot$; alkoksil, $RO\cdot$; peroksil, $ROO\cdot$; hidroksil, $\cdot OH$) zincir reaksiyon mekanizması yoluyla meydana geldiği kabul edilmektedir. Otoksidasyon üç adımdan oluşan serbest radikal zincir mekanizmasıyla ilerler (Hamilton vd., 1997; Gordon, 2001):

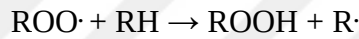
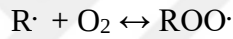
i. Başlangıç aşaması:

Alkil radikali ($R\cdot$) oluşumuna yol açan bir metilen grubundan hidrojen atomunun çıkarılması



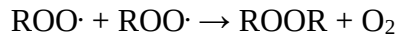
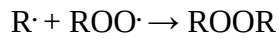
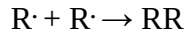
ii. Gelişme aşaması:

Doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girebilen ve hidroperoksitler ($ROOH$) oluşturabilen peroksi radikallerinin ($ROO\cdot$) oluşumu



iii. Sonuç aşaması:

$R\cdot$ ve $ROO\cdot$ 'nun reaksiyonu ile radikal olmayan ürünlerin oluşumu



Genel olarak lipid oksidasyonu, birincil oksidasyon ürünleri olarak peroksitler, hidroperoksitler ve konjuge dienler/trienler üretir. Bu bileşikler kararsızdır ve daha sonra alkol, aldehit, keton, hidrokarbon, uçucu organik asitler, epoksi ve polimerler dahil olmak üzere çok çeşitli ikincil oksidasyon ürünlerine parçalanır. Bu bileşikler, gıdada kötü koku ve tada neden olmaktadır (Lyras vd., 1997). Bu noktada, gıda ürünlerinde lipid oksidasyonunu kontrol etmek için antioksidanların ilavesi, vakum ve modifiye atmosferde paketlenme gibi çeşitli yöntemler uygulanmaktadır (Dominguez vd., 2019).

Lipid oksidasyonunun belirlenmesinde doğrudan ve dolaylı olarak oksidasyon ürünlerinin belirlenmesini sağlayan yöntemler kullanılmaktadır. Doğrudan yöntemde,

oksidasyon seviyesi lipit oksidasyonunun birincil ve ikincil ürünlerinin belirlenmesi ile ölçülmektedir. Birincil oksidasyon ürünlerini belirleyen en yaygın yöntemler arasında peroksit değeri, iyot değeri ve dien konjugasyon ölçümü bulunmaktadır (Kunyaboon vd., 2021; Knothe, 2002).

PV analizi, titrasyon veya spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilen gıda ürünlerindeki lipitlerin çıkarılmasından sonra lipit peroksitler de dahil olmak üzere tüm konjuge yağ asitlerini belirleyen bir yöntemdir (Abeyrathne vd., 2021). Hidroperoksit, birikebilen ve daha sonra alkol, aldehit, serbest yağ asiti ve keton gibi daha düşük moleküler ağırlıklı bileşikler oluşturacak şekilde ayrışabilen oksidasyonun birincil ürünleridir (Şimşek, 2011). Peroksitler ve serbet yağ asitleri, MDA gibi ikincil ve üçüncül oksidasyon ürünlerini oluşturmak üzere lipit oksidasyonunun son aşamalarında oksitlenir (Abeyrathne vd., 2021).

İkincil oksidasyon ürünü olan MDA miktarının belirlenmesi, lipit oksidasyonunun en çok kullanılan göstergesidir (Tarladgis vd., 1960; Reitznerova vd., 2017). MDA doymamış yağ asitlerinin parçalanması sırasında oluşan bir bileşiktir (Jung vd., 2016). TBARS yöntemi çoğunlukla damıtma ya da asit ekstraksiyonundan sonra MDA'nın TBA ile reaksiyonunu içermektedir. Bu yöntem, lipit oksidasyonu sonucu oluşan ikincil metabolitlerin (aldehit, keton, alkol, polimerler) seviyelerini ölçmekte kullanılır (Abeyrathne vd., 2021). Reaksiyon ürünleri spektrofotometrik olarak belirlenir. Ayrıca, yüksek performanslı sıvı kromatografisi ve gaz kromatografisi kullanılarak MDA miktarı ve lipit oksidasyonunun ikincil maddeleri hesaplanabilir (Kunyaboon vd., 2021; Jo ve Ahn, 1998). MDA tayini için TBARS analizi, duyarlılığı ve nispeten kolay prosedürü nedeniyle gıdalarda lipit oksidasyonunun değerlendirilmesinde en sık kullanılan yöntemdir (Tarladgis vd., 1964).

2.7 Antioksidanlar

Antioksidan, serbest radikallerin neden olduğu oksidasyon reaksiyonlarını durduran ya da yavaşlatan bileşikler olarak tanımlanır (Amorati ve Valgimigli, 2018). Antioksidanlar kendi elektronlarını serbest radikallere bırakmaya istekli olduğu için oksidasyonda etkilidir. Serbest radikalın antioksidandan bir elektronu almasıyla hücreye saldırmasına gerek kalmaz ve oksidasyonun zincir reaksiyonun bozulmasını

sağlar (Dekker vd., 1996). Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek oksidasyon sürecini engeller. Bu işlemi yaparken antioksidanların kendisi de oksitlenir. (Buttriss vd., 2002). Antioksidan aktive mekanizması (Saldamlı ve Uygun, 1998) şu şekildedir:

- i. Antioksidanlar, zincir tepkimesinin ilerleme aşamasında $ROO\cdot$ serbest radikale H atomu vererek zincir tepkimesini durdururlar. Antioksidanların serbest radikalle bağlanıp kompleks oluşturması:
 $AH + ROO\cdot \rightarrow ROOH + A\cdot$
- ii. İlerleme aşamasında oluşmuş $ROO\cdot$ ile antioksidan radikallerinin reaksiyona girmesi.
 $A\cdot + ROO\cdot \rightarrow ROOA$
- iii. Bitiş aşamasında serbest antioksidan radikalleri kendi aralarında tepkimeye girerler ve böylece antioksidan rejenerasyonu sağlanmış olmaktadır.
 $A\cdot + A\cdot \rightarrow A - A$

Antioksidanlar, fizyolojik süreçler sırasında sistemde üretilen reaktif oksijen türlerinin (ROS) nötralize edilmesini sağlar (Harasym ve Oledzki, 2014). Hidroksil ($HO\cdot$), süperoksit ($O_2\cdot$), hidroperoksil ($HOO\cdot$), lipit radikali ($L\cdot$), lipit peroksil ($LOO\cdot$), peroksil ($ROO\cdot$) ve lipit alkolsil ($LO\cdot$) ROS örnekleridir. Bu bileşikler her yerde bulunur ve biyomoleküller için potansiyel olarak zararlıdır (Gülçin, 2020; Sunkara ve Raizner, 2019). Aşırı ve kontrolsüz ROS üretimi oksidatif stres olarak adlandırılır. Bu durum kronik iltihaplanma, astım, yaşlanma, kanser, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli durumlarla bağlantılı hücre fonksiyonundaki değişiklikler gibi bazı değişikliklere yol açabilir (López-Alarcón ve Denicola, 2013; Pisoschi ve Pop, 2015).

Antioksidanlar, ya doğrudan gıda maddelerine ya da gıda ambalaj malzemelerine eklenerek gıdaların oksidasyon ile bozulmalarının önüne geçmek amacıyla kullanılırlar (William vd., 2000). Örneğin kağıt, polietilen, plastik ve karton gibi ambalaj malzemelerine, malzemenin kendisinin oksidasyonunu önleyen antioksidanlar eklenebilir veya eklenen antioksidanların, paketlenmiş gıdanın içine geçerek gıdadaki oksidasyonun önlemesini sağlayabilir (Morton vd., 2000; Van Esch, 1986).

Antioksidanlar sentetik ve doğal olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Frankel vd., 1996; Nguyen vd.,1999). Sentetik antioksidanlar doğada bulunmadığından kimyasal olarak sentezlenene bileşiklerdir ve lipid oksidasyonunu önlemeye yardımcı olmak için gıdalara koruyucu olarak eklenirler. Doğal antioksidanların kararsızlığı nedeniyle, katı ve sıvı yağları stabilize etmek için çeşitli sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. İlk olarak BHT ve BHA petrolü oksidatif sakıncılaşmadan korumak için geliştirilmiştir (Simec ve Porter, 1980). Hem BHA hem de BHT “genel olarak güvenli olarak kabul edilen” maddeler listesinde, fakat kronik toksisite çalışmaları BHT’nin yüksek seviyelerde alınmasında potansiyel tümör destekleyicisi olduğunu belirtmektedir (Kaczmarek vd., 1999; Witschi, 1981). Diğer sentetik antioksidanlara propil galat (PG), dodesil galat (DG), oktil galat (OG) ve diaminetetrasetik asit (EDTA) örnek verilebilir (Atta vd., 2017). Diğer taraftan, sentetik antioksidanların toksik etkileri nedeniyle doğal antioksidanlara yönelim artmaktadır (Yavaşer, 2011).

Doğal antioksidanların ise olumlu sağlık etkileri nedeniyle, sentetik antioksidanların yerine antioksidan ajan olarak kullanımlarına olan ilgi yüksektir (Lopez-Velez vd., 2003). Karasal bitkiler, mantarlar ve algler, yapılarında bulunan polifenolik maddeler, pigmentler, flavonoidler ve vitaminler nedeniyle doğal antioksidanların kaynağı olarak değerlendirilirler (Maqsood ve Benjakul, 2010). Doğal antioksidanların serbest radikal oluşumunu engelleme gücü nedeniyle, özellikle bazı hastalıkların önlenmesinde faydalı oldukları belirtilmiştir (Atta vd., 2017). Fenolik fitokimyasallar gibi gıdalarda bulunan doğal antioksidanların metabolik faydalar sağladığı ve çeşitli sağlık sorunlarının ortaya çıkma riskini azalttığı görülmektedir (Cömert ve Gökmen, 2018). Doğal antioksidan alımının kanser, kalp-damar hastalıkları, diyabet ve yaşlanmayla ilgili diğer hastalıkların riskini azalttığı bildirilmiştir (Klaus ve Heribert, 2004). Doğal antioksidanlar yüksek sıcaklık, aşırı pH ve ışık gibi olumsuz koşullar altında aktivitelerini kaybedebilirler (Maqsood ve Benjakul, 2010).

2.7.1 Antioksidan aktivite tayini

AOA tayin yöntemi hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar (HAT) ve tek elektron transferine dayanan reaksiyonlar (SET) olmak üzere iki gruba ayrılır. Kinetik ve reaksiyon aşamaları farklı olsa da, reaksiyon mekanizmasından bağımsız olarak nihai sonuç aynıdır (Prior vd., 2005). SET mekanizmasına dayanan başlıca tayin yöntemleri;

ABTS (2,2-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid), CUPRAC (kuprik iyon indirgeme antioksidan kapasite tayini) ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme kapasitesi yöntemidir (Kim vd., 2002; Thaipong vd., 2006; van der Berg vd., 2001). Yöntemlerin çoğu aynı prensibi kullanır. Sentetik renkli bir radikal veya redoks aktif bileşik üretilir. Biyolojik bir örneğin radikal temizleme veya redoks aktif bileşiği azaltma yeteneği, antioksidan kapasiteyi ölçmek için uygun bir standart uygulanarak spektrofotometre ile ölçülür. Sonuçlar Troleks eşdeğeri (TE) antioksidan kapasite ya da C vitamini eşdeğeri antioksidan kapasitesi olarak verilir (Dudonne vd., 2009).

2.7.1.1 ABTS yöntemi

Bu yöntemde, ABTS persülfat ile reaksiyona girerek $ABTS^{\cdot+}$ radikali meydana gelir. Oluşan bu radikal, toplam radikal süpürme kapasitesini ölçmek için kullanılır. Bu metod antioksidan bileşikler tarafından ABTS'nin rengini kaybetme ilkesine dayanmaktadır (Büyüktuncel, 2013). Uygulamasının kolay olması, ABTS radikalinin geniş bir pH aralığında kararlı olması ve hem sulu hem de organik çözücülerde çözünebilir olması dolayısıyla lipofilik ve hidrofilik bileşiklerin antioksidan kapasitesini ölçmek için kullanılabilmesi yöntemin avantajlarını oluşturmaktadır (Lemanska vd., 2001; Osman vd., 2006).

2.7.1.2 CUPRAC yöntemi

CUPRAC yöntemi, antioksidanların Cu^{+2} iyonunun Cu^+ iyonuna indirme yeteğini ölçme prensibine dayanmaktadır (Pietta, 2000). Renkli Cu^+ -Neokuproin şelatı veren redoks reaksiyonu hava, güneş ışığı, nem ve pH gibi parametrelerden etkilenmemektedir (Apak vd., 2004). CUPRAC yönteminde ürik asit, gallik asit ve askorbik asit için analiz birkaç dakika içinde tamamlanırken, daha kompleks moleküller için daha uzun süreler gereklidir. Bu durum CUPRAC yönteminde uygun reaksiyon zamanını seçmek gerektiğinden bir dezavantaj olabilmektedir (Prior vd., 2005).

2.7.1.3 DPPH yöntemi

DPPH radikali koyu mor renkte stabil bir kromojen radikalidir. Ticari olarak bulunur ve analizden önce bir hazırlık gerektirmez. Bu metod, DPPH radikalini nötralize etmek

için antioksidanların elektron transferi ilkesine dayanmaktadır ve 517 nm’de renk değişimi ölçülerek antioksidan etkinliği ölçülmektedir (Benzie ve Strain, 1999). DPPH yönteminin kolay, hızlı, ekonomik, tekrarlanabilir ve oda sıcaklığında uygulanabilirlik gibi avantajları bulunmaktadır. Diğer taraftan, DPPH radikalinin sadece organik solventte çözünmesi (sulu ortamda çözünmez) gibi bir dezavantajı mevcuttur (Perez-Jimenez vd., 2008; Arnao, 2000). Metanol, etanol ya da bunların sulu karışımlarında çözünür. Radikalin daha iyi çözünebilmesi için su içeriği %60’ı geçmemelidir (Apak vd., 2018).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

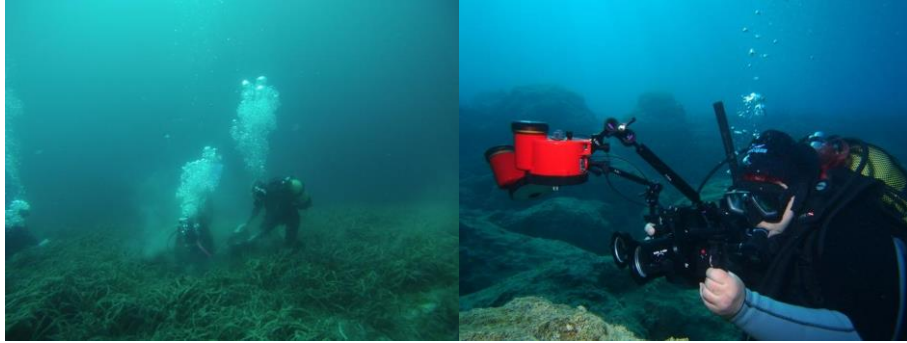
3.1 Makroalgin toplanması ve hazırlanması

Bu çalışmanın karotenoid ekstraksiyonu kısmı, 221O673 proje numaralı ve “Türkiye Denizlerinden Toplanan *Gracilaria dura*, *Sargassum acinarium* ve *Ulva rigida* Makroalglerinden Karotenoidlerin Ultrases prob Destekli Enzimatik Ekstraksiyonu ve Karotenoid Profillerinin Belirlenmesi: Nanoemülsiyonu, in vitro Biyoerişilebilirliği ve Depolama Stabilitésinin Araştırılması” başlıklı TÜBİTAK projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan *Gracilaria dura* makroalgi, proje ekibinde araştırmacı olarak yer alan Dr. Öğr. Üyesi Emine Şükran OKUDAN tarafından, Çanakkale-Karanlıkliman mevkiinde (koordinat: 40°1'35.90"K ve 26°19'49.49"D), 1 metre derinlikten, SCUBA ve serbest dalışlar ile su altında dikey ve yatay taramalar şeklinde dalış yapılarak toplanmıştır. Alglerin toplandığı mevkiyi gösteren haritalar Şekil 3.1’de, alg toplama çalışmalarından görüntüleri Şekil 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.1. *Gracilaria dura* 'nın toplandığı istasyonların harita üzerinde gösterimi.

Bu projede kullanılan sarf malzemeleri ise HCl, NaOH, etanol, butanol, kloroform, metanol, aseton, hekzan, asetik asit, glacial asetik asit, dietil eter, potasyum iyodür, potasyum fosfat, nişasta, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, fenolftalein, amonyum tiyosiyanat, TBA, triklorasetik asit, Troloks, bakır(II)klorit, neokuprin, amonyum asetat tamponu, ABTS radikali, DPPH radikali, potasyum persülfat, zeaksantin, astaksantin, fukoksantin ve Viscozym L enzimi Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Almanya)'dan temin edilmiştir.



Şekil 3.2. Alg toplama çalışmalarından görüntüler.

Toplanan algler epifitlerinden, içlerinde bulunabilecek taş, kum ve çamurlardan arındırılmak amacıyla ayıklanıp tatlı su ile yıkanmıştır. Ayıklanan algler doğrudan güneşe tabi tutulmadan gölgelik bir alanda, 30 °C'de kurutulduktan sonra, bir laboratuvar tipi öğütücü (Waring 8011 Eb Blender, Cole-Parmer Instrument Company, Illinois, ABD) kullanılarak öğütülmüş ve bir mesh elek kullanılarak elde edilen <500

μm partikül boyutlarındaki örnekler oksijen ve gün ışığına maruz kalmayacak şekilde ambalajlandıktan sonra, sonraki analizlere kadar $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

3.1.1 *Gracilaria dura*'dan karotenoidlerin ekstraksiyonu

Gracilaria dura'dan karotenoidlerin ekstraksiyonunda 2 farklı Yanıt Yüzey Metodolojisi (Response Surface Methodology, RSM) çalışması gerçekleştirilmiştir. Birinci RSM çalışmasında, 1:20 (w/v) oranında makroalg:su karışımı bir ultrases homojenizatör (Bandelin Electronic, Sonopuls HD 2200, Berlin, Almanya) kullanılarak 25-125 sn arasında ultrases prob uygulamasına tabi tutulmuştur. Daha sonra karışıma 20-100 μL arasında Viscozyme L enzim ilavesi yapılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. *Gracilaria dura*'dan karotenoidlerin birinci ekstraksiyonunda merkezi kompozit tasarım temelli deney tasarımında bağımsız değişkenlerin kodlanmış ve gerçek değerleri.

Run	Ultrases prob uygulama süresi (sn)		Viscozyme L (μL)	
1	75	0	3,43	$-\alpha$
2	75	0	60	0
3	145,71	$+\alpha$	60	0
4	75	0	60	0
5	75	0	116,57	$+\alpha$
6	125	+1	20	-1
7	25	-1	20	-1
8	75	0	60	0
9	75	0	60	0
10	75	0	60	0
11	25	-1	100	+1
12	125	+1	100	+1
13	4,29	$-\alpha$	60	0

İkinci RSM çalışmasında ise 10-120 sn ultrases prob uygulama süresi, 10-150 μL Viscozyme L ve 0,20-2,00 hekzan:aseton oranı uygulanmıştır (Çizelge 3.2).

İkinci ekstraksiyon çalışmasında ise 10-120 sn ultrases prob uygulaması ve 10-150 μL Viscozyme L enzim ilavesi ile hazırlanan bir Çizelge 3.2'de gösterilen deney tasarımına göre ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2. *Gracilaria dura*'dan karotenoidlerin ikinci ekstraksiyonunda merkezi kompozit tasarım temelli deney tasarımında bağımsız değişkenlerin kodlanmış ve gerçek değerleri.

Run	Ultrases prob uygulama süresi (sn)		Viscozyme L (µL)		Hekzan:aseton oranı	
1	65	0	10	-1	2,00	+1
2	65	0	80	0	1,10	0
3	65	0	80	0	1,10	0
4	120	+1	80	0	2,00	+1
5	10	-1	10	-1	1,10	0
6	120	+1	80	0	0,20	-1
7	65	0	80	0	1,10	0
8	65	0	80	0	1,10	0
9	65	0	150	+1	0,20	-1
10	10	-1	150	+1	1,10	0
11	120	+1	10	-1	1,10	0
12	65	0	80	0	1,10	0
13	10	-1	80	0	0,20	-1
14	10	-1	80	0	2,00	+1
15	65	0	10	-1	0,20	-1
16	120	+1	150	+1	1,10	0
17	65	0	150	+1	2,00	+1

G. dura'ya uygulanan bu RSM çalışmalarında, örneklerde gözlemlenen yoğun jelleşme problemi nedeniyle karotenoid miktarının belirlenmesi sırasında spektrofotometrik analizde absorbans değerleri okunamamıştır. Bu nedenle jelleşme probleminin giderilmesi amacıyla Çizelge 3.3-3.4'te verilen farklı koşullar ve parametreler denenerek hem jelleşme problemini önlemek hem de ekstrakte edilen karotenoid miktarının artırılması amaçlanmıştır.

G. dura'dan karotenoidlerin ekstraksiyonunda uygulanan üçüncü ekstraksiyon çalışmasında ise %0,25 ve 0,50 konsantrasyonlarda hazırlanan NaCl çözeltisi, 1:10 oranında makroalg:tuzlu su karışımı olacak şekilde makroalg örneklerine ilave edilmiştir. Daha sonra 5 dk ultrases, ardından 30 sn ultrases prob uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Santrifüj (4000 rpm, 21 °C ve 20 dk. koşullarında) ile üst faz uzaklaştırıldıktan sonra kalan kısma 80:20 (v/v) etanol:su karışımından 20 mL ilave edilmiştir. Üzerine 300 µL Viscozyme L enzimi ilave edildikten sonra karanlık koşullarda, +12 °C'de 80 rpm çalkalama hızındaki bir çalkalamalı su banyosunda 24 sa boyunca ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Ekstraksiyondan sonra elde edilen

karişım 4000 rpm, 21 °C ve 20 dk. koşullarında santrifüj edildikten sonra, bir rotary evaporatör kullanılarak üst fazda bulunan etanolün uzaklaştırılması sağlanmıştır. Elde edilen karotenoid ekstraktlar dondurularak kurutulduktan sonra tereyağ örneklerine ilave edilmiştir. Dördüncü ekstraksiyon çalışmasında da ekstraksiyon parametreleri dışında benzer prosedür uygulanmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.3. *Gracilaria dura* üçüncü karotenoid ekstraksiyonunda uygulanan bağımsız değişkenler ve seviyeleri.

Örnek	Tuz çözeltilisi, %	Ultraturaks uygulaması, dk	Ultrases prob uygulama süresi, sn	Viscozyme L, µL	Etanol:Su
1	0,25	5	30	300	80:20
2	0,50	5	30	300	80:20

Çizelge 3.4. *Gracilaria dura* dördüncü karotenoid ekstraksiyonunda uygulanan bağımsız değişkenler ve seviyeleri.

Örnek	Ultraturaks uygulaması, dk	Ultrases prob uygulama süresi, sn	Enzim	Etanol:Su
1	5	30	300 µL Viscozyme L	80:20
2	5	30	1 g hemiselülaz/ 1 g alg	80:20
3	5	30	-	80:20

3.1.2 Ekstraktların toplam karotenoid miktarı/ekstraksiyon verimi

Ekstraktların toplam karotenoid miktarının/ekstraksiyon veriminin belirlenmesi amacıyla, yukarıda özetlenen ekstraksiyon prosedürleri ile elde edilen ekstraktların 430 nm'deki absorbansları bir UV-visible spektrofotometre (Scilogex Sci-UV1000 Spectrophotometer, Scilogex, ABD) kullanılarak ölçölmüştür. Miktersal tayinler için kalibrasyon grafiği, standart olarak β-karotenin kullanılmasıyla elde edilen kalibrasyon grafiği ile örnekteki toplam karotenoid miktarı (karotenoid verimi) hesaplanmış ve kuru madde (k.m.) bazında, β-karoten cinsinden kilogram algden elde edilen milligram karotenoid olarak ifade edilmiştir. Karotenoid ekstraksiyonunun

verimi Gu vd. (2008)'nin çalışmasında verilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

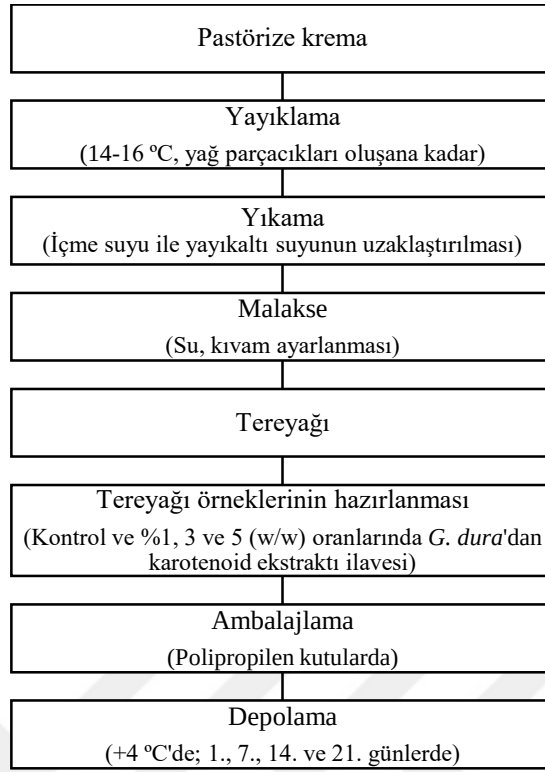
$$\text{Karotenoid ekstraksiyon verimi (mg } \beta\text{-karoten/kg)} = \frac{A \times D \times V}{W} \quad (3.1)$$

A: Seyreltilmiş ekstraktın absorbanası; D: Seyreltme oranı; V: Çözücü hacmi; W: Ekstraksiyonda kullanılan kuru ağılıkta alg ağırlığı (kg).

En yüksek karotenoid verimini sağlayan ekstraksiyon koşullarında elde edilen kırmızı makroalg *Gracilaria dura*'dan karotenoid ekstraktları hazırlanarak, tereyağına ilavesi gerçekleştirilmiştir.

3.2 Tereyağı üretimi

Bu tez çalışması kapsamında *G. dura*'dan karotenoid ekstraktları ile tereyağ üretimi Şekil 3.3'te gösterildiği gibi gerçekleştirilmiştir. Üretilen tereyağı örnekleri Şekil 3.4'te görüldüğü gibi kapaklı polipropilen kaplar kullanılarak ambalajlanmış ve +4 °C'de 21 gün boyunca depolanmıştır. Depolanan örneklerin, depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde pH, titrasyon asitliği, AOA ve oksidasyon testleri (PV ve TBARS analizleri) yapılmıştır.



Şekil 3.3. Tereyağı üretim aşamaları.

Hazırlanan tereyağı örneklerinde *G. dura* karotenoid ekstraktı içermeyen (K) ve %1, 3 ve 5 oranında *G. dura* ekstraktı içeren tereyağı örnekleri ise sırasıyla GT1, GT3 ve GT5 olarak tanımlanmıştır.



Şekil 3.4. Paketlenmiş tereyağı örnekleri.

3.3 Fizikokimyasal özelliklerin belirlenmesi

Tereyağı örneklerinin fizikokimyasal özelliklerinin, pH ve titrasyon asitliği ölçümleri ile belirlenmesi amacıyla depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde ilgili analizler yapılmıştır.

3.3.1 pH ölçümü

Örneklerin pH değerlerindeki değişimin belirlenmesi amacıyla depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde pH ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, 1 gram tereyağı örneğinin üzerine yaklaşık 40 °C sıcaklıktaki distile sudan 20 mL ilave edilmiş ve stomacher poşete alınmış ve homojenizatörde homojenize edilmiştir. Örneklerin pH değerlerini ölçmek amacıyla, ilgili depolama günlerinde, pH (Hanna Instrument, HI2002-02 Model pH metre) metre bu sulu karışıma daldırılarak, sabit bir değer oluşuncaya kadar beklenmiş ve pH değeri kaydedilmiştir (Eser ve İnanc, 2022).

3.3.2 Titrasyon asitliği

Yağ örneklerinin titrasyon asitlik değerinin belirlenmesi için bir behere yaklaşık 5 g örnek tartılmıştır. Daha sonra, 50 mL alkol ve eter (1:1) çözeltisi ilave edilmiş ve bu karışıma 2 damla %1'lik fenolfitalein de eklenerek, 0.1 N NaOH çözeltisi ile titre edilmiştir. Yağın titrasyon asitliği % laktik asit cinsinden hesaplanmıştır (Türk Standartları Enstitüsü, 1995).

3.3.3 Lipofilik fraksiyonların ekstraksiyonu

Tereyağı örneklerinin AOA'ni belirleyebilmek için öncelikle Medeiros de Azevedo vd. (2020)'ın yöntemi kullanılarak lipofilik fraksiyonların ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, 1 g tereyağı örneği tartılarak kapaklı bir falkona aktarılmıştır. Örneklerin üzerine 10 mL etanol:distile su (90:10, v/v) eklendikten sonra vortekslenmiştir. Daha sonra örnekler 30 dakika boyunca 24 °C'de, 80 rpm çalkalama hızında bir su banyosunda (N-Biotek-303, Biotek Co., Ltd. Kore) 30 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda örnekler 21 °C'de, 4100 rpm hızında 20 dakika boyunca santrifüj edilerek lipofilik fraksiyonları içeren üst faz alınarak AOA deneylerine tabi tutulmuştur.

3.3.4 Oksidatif stabilitenin belirlenmesi

3.3.4.1 Peroksit sayısı analizi

Depolama örneklerinin PV'ni belirlemek amacıyla, 5 g tereyağı örneği erlene tartılıp üzerine 10 mL kloroform ilave edilip karıştırılmıştır. Sonra 15 mL glacial asetik asit, 1 mL doymuş potasyum iyodür çözeltisi eklenerek bir manyetik karıştırıcı kullanılarak tekrar karıştırma işlemine tabi tutulmuştur. Karışım, 15-25 °C sıcaklıkta karanlıkta 10 dakika bekletilip, kaynatılmış soğutulmuş distile sudan 75 mL eklenip karıştırılmıştır. Ardından nişasta çözeltisi damlatılıp 0,002 N Na₂S₂O₃ ile renk açılncaya kadar titre edilmiştir. Şahit deney de yapıldıktan sonra aşağıdaki formül kullanılarak peroksit sayısı bulunmuştur (Atamer, 1993).

$$\text{Peroksit Değeri} = \frac{V_1 - V_2}{m} \times N \quad (3.2)$$

Burada, V₁: Örnek için harcanan Na₂S₂O₃ miktarı, mL; N: Na₂S₂O₃'ün normalitesi, V₂: Tanık deney için harcanan Na₂S₂O₃ miktarı, mL; m: Örnek miktarı, g.

3.3.4.2 TBARS değerlerinin belirlenmesi

İkincil oksidasyon ürünleri TBARS analizi ile belirlenmiştir (Tarladgis vd., 1960). Bu doğrultuda, 50 °C'deki distile su ile 10 g tereyağı örneği stomacher poşete aktarılmış ve 10 dakika süresince homojenize edilmiştir. Daha sonra örneğin üzerine 47,5 mL distile su ve 2,5 mL 4 N HCl çözeltisi ilave edilerek destilasyon işlemine geçilmiştir. 100 mL destilat toplanıncaya kadar destilasyon işlemine devam edilmiştir. Destilasyon işleminin sona ermesinden sonra, destilatın 5 mL'si kapaklı deney tüpüne alınmıştır. Üzerine %90'lık 100 mL glacial asetik asit içerisinde 0,2883 g çözdürülmüş 5 ml TBA reaktifi eklenmiş ve vortekslenmiştir. Daha sonra yine kapaklı bir deney tüpüne 5 mL TBA reaktifi ve 5 mL distile su eklenerek kör numune hazırlanmıştır ve vorteksten geçirildikten sonra tüpler kaynayan su banyosunda 35 dakika tutulup daha sonra soğumaya bırakılmıştır. Son olarak, bu karışım cam tüplere aktarılmış 538 nm dalga boyunda UV-visible spektrofotometre kullanılarak köre karşı optik dansitesi okunmuştur. Elde edilen dansite değeri ise 7,8 ile çarpılarak 1000 g örnekteki mevcut MDA miktarı mg olarak hesaplanmıştır.

3.3.5 Antioksidan aktivite tayini

Örneklerin AOA'lerini belirlemek amacıyla DPPH, ABTS ve CUPRAC yöntemleri gerçekleştirilmiştir.

3.3.5.1 ABTS metodu

ABTS analizi Miller ve Rice-Evans (1997)'a göre gerçekleştirilmiştir. ABTS stok çözeltisi 50 mM potasyum fosfat tampon çözeltisinde (pH 8,0) absorbansı 734 nm'de 0,90 ($\pm 0,05$) olacak şekilde seyreltilmiştir. Daha sonra, 100 μ L örnek ile 1 mL ABTS çözeltisi ile karıştırılmış ve 1 dakika karıştırma işleminden sonra 734 nm'de absorbansı UV-visible spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür. Sonuçlar 1 gram örneğin kuru ağırlığında mg TE olarak verilmiştir.

3.3.5.2 CUPRAC yöntemi

CUPRAC metodunda, 100 μ L örnek ekstraktı üzerine sırasıyla 1 mL 10^{-2} M bakır (II) klorür çözeltisi, 1 mL 7.5×10^{-3} M neokuprin çözeltisi (etanol içinde), 1 mL amonyum asetat tampon çözeltisi (pH: 7,0) ve 1 mL saf su eklenmiştir. Oda sıcaklığında ve aydınlıkta 30 dakika bekletildikten sonra örneklerin 450 nm'de absorbansları bir UV-visible spektrofotometre kullanılarak okunmuştur. Örneklerin AOA değeri, Trolox standardı kullanılarak hazırlanan kalibrasyon eğrisi yardımı ile hesaplanmış sonuçlar mg TE/g k.m. olarak ifade edilmiştir (Apak vd., 2004).

3.3.5.3 DPPH metodu

DPPH metodunda, 100 μ L örnek ekstraktı üzerine 2 mL 0.1 mM DPPH çözeltisi (metanol içinde) ilave edilmiştir ve 10 saniye çalkalama işleminden sonra oda sıcaklığında, karanlık ortamda 30 dakika bekletilerek, bir UV-visible spektrofotometre kullanılarak 517 nm'deki absorbansları ölçülmüştür. Sonuçlar, mg TE/g k.m. olarak ifade edilmiştir (Kumaran vd., 2006).

3.4 Deney tasarımı ve istatistiksel analiz

En yüksek karotenoid içeriğe sahip ekstraktları elde etmek için Box-Behnken dizayn ve merkezi kompozit tasarım ile temellendirilen yanıt yüzey metodolojisi kullanılarak ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Birinci optimizasyon çalışmasında ultrases prob uygulama süresi, Viscozyme L enzim miktarı; ikinci optimizasyon çalışmasında; ultrases prob uygulama süresi, Viscozyme L enzim miktarı ve hegzan:aseton oranı bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir. Bağımsız değişkenler 3 seviye olarak uygulanmış olup bu seviyeler ön çalışmalar ile belirlenmiştir. Yanıt fonksiyonu (Y) ekstraktlarda bulunan β -karoten cinsinden karotenoid miktarı (mg karoten/kg örnek k.m.)'dır.

İstatistiksel analiz Design Expert 7.1 software (Stat-Ease, Inc., MN, USA) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak $p=0,05$ önem düzeyinde değerlendirilmiştir. Modelin uygunluğu belirleme katsayısı (R^2) ve modelin zayıflığı ile belirlenmiştir. Örneklerde bulanıklık problem olduğundan spektrofotometrede okumalar yapılamamıştır. Bu nedenle, yanıt ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi gösteren kuadratik polinomsal model kullanılamamıştır.

Bütün analizler iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde gösterilmiştir. Datalar Minitab istatistik programı (Minitab, Version 17, Minitab Inc., State College, PA) kullanılarak analizlenmiştir. Deney verileri varyans analizi (ANOVA) kullanılarak analizlenmiş ve ortalamalar arasındaki farklılık $p=0,05$ önem seviyesinde Tukey testi kullanılarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 *Gracilaria dura*'dan karotenoidlerin ultrases prob destekli ekstraksiyonu

4.1.1 Tuz konsantrasyonunun etkisi

G. dura karotenoidlerinin ekstraksiyonu kapsamında üçüncü ekstraksiyon çalışmasında, en yüksek karotenoid miktarı %0,50 NaCl konsantrasyonunda elde edilmiştir (Çizelge 4.1). Diğer taraftan, çalışmanın sonuçlarına göre iki farklı tuz konsantrasyonu karotenoid miktarı üzerinde anlamlı bir farklılığa neden olmamıştır ($p>0,05$, Çizelge 4.1). Jaramillo-Flores vd. (2005)'nin yaptıkları çalışmada havuçta (*Daucus carota* L.) sodyum klorür (NaCl), asetik asit (CH_3COOH) ve enzimlerin α -karoten ve β -karoten ekstraksiyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Ekstraksiyon işlemi NaCl (0,6 M ve 1,2 M), CH_3COOH (%1,33; %2,67; %4) ve bu ikisinin farklı kombinasyonlarında gerçekleştirilmiştir. Klasik ekstraksiyon yönteminde α -karoten $36,81\pm3,39$ $\mu\text{g/g}$ ve β -karoten $73,89\pm3,44$ $\mu\text{g/g}$ bulunmuştur. NaCl ilavesinin karotenoidlerin ekstrakte edilebilirliğinde bir artış sağladığı gözlenmiş olup, 0,6 M NaCl ilavesi ile α -karoten ve β -karoten miktarında sırasıyla %49 ve %41,4 artmıştır.

Çizelge 4.1. *Gracilaria dura* makroalginden karotenoid ekstraksiyonunda üçüncü ekstraksiyonun deney koşulları ve karotenoid miktarı (mg β -karoten/kg k.m.).

Örnek	Tuz çözeltisi, %	Ultraturaks uygulaması, dk	Ultrases prob uygulama süresi, sn	Viscozyme L, μL	Etanol:Su	Karotenoid miktarı mg β -karoten/kg k.m.
1	0,25	5	30	300	80:20	$9,42\pm0,33^a$
2	0,50	5	30	300	80:20	$9,49\pm0,08^a$

*: a karotenoid miktarları arasındaki istatistiksel farklılık (Tukey, $p<0,05$).

İlave olarak, Sricharoen vd. (2016)'nın, çeşitli meyve sularında β -karoten ve diğer karotenoidlerin ekstraksiyonunda %10 konsantrasyonda hazırlanan farklı tuz çözeltilerinin (NaCl, CaCl_2 , AlCl_3 , NaNO_3 , Na_2SO_4 , ve Na_2HPO_4) ekstraksiyon verimine etkisini araştırdıkları çalışmada, tuz ilavesinin iyonik gücün artmasına yol açtığı ve analitin ekstraksiyon verimliliğini arttırdığı belirtilmiştir. Özellikle NaCl, NaNO_3 ve Na_2SO_4 ile ölçülebilir etkiler tespit edilmiştir. Genel olarak, ekstraksiyon

çözültisine tuz ilavesi, analitin sulu fazdaki çözünürlüğünü veya organik çözücülerin sudaki çözünürlüğünü azalttığı ifade edilmiştir. Benzer şekilde, Sereshti vd. (2014), β -karoten ekstraksiyonunun tuz konsantrasyonuna bağlı olarak değişebildiği ifade edilmiştir.

4.1.2 *Gracilaria dura*'dan karotenoidlerin ekstraksiyonunda Viscozyme L ve hemiselüloz enzimlerinin etkisi

Makroalgal hücreler, çözücülerin hücre içine girişine engel teşkil eden dinamik, karmaşık ve sert hücre duvrularından oluşmaktadır. Ek olarak, karotenoidlerin proteinler ve yağ asitleri gibi diğer makro moleküllerle olan sıkı ilişkisi, ekstraksiyon sırasında karotenoidlerin kütle transferlerini engellemektedir. Dolayısıyla ekstraksiyonun ilk adımında bu bariyerler, karotenoidlerin verimli ekstraksiyonunu kolaylaştırmak için fiziksel, kimyasal, enzimatik ya da biyolojik yollarla bozulmalıdır. Uygun hücre parçalama yöntemlerinin seçimi temel olarak hücre matris ve hücre duvarı özelliklerine bağlıdır (Saini ve Keum, 2018).

Dördüncü ekstraksiyon çalışmasında ise, *G. dura* karotenoidlerinin ekstraksiyonunda ultraturaks, ultrases prob ve etanol:su oranı sabit tutularak Viscozyme L ve hemiselüloz enzimlerinin ve enzimsiz uygulamaların karotenoidlerin ekstraksiyonuna etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, 300 μ L Viscozyme L ve hemiselüloz (enzim/substrat: 1/1) enzimleri ve enzimsiz uygulamalarla elde edilen ekstraktların karotenoid miktarları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar elde edilmemiştir ($p>0,05$, Çizelge 4.2). En yüksek karotenoid ekstraksiyonu 5 dk ultraturaks, 30 sn ultrases prob uygulaması ile enzim ilave edilmeyen ekstraksiyon koşullarında $10,97\pm0,30$ mg β -karoten/kg k.m. olarak elde edilmiştir.

Deenu vd. (2013)'nin çalışmasında *Chlorella vulgaris* mikroalginden lutein karotenoidinin ekstraksiyonunda Viscozyme L enzimi ilavesi ile ultrases destekli ekstraksiyon verimine etkisi araştırılmıştır. *C. vulgaris*'inden lutein verimleri enzimatik ön işlem ekstraksiyonunda 3,36 mg/g, enzimatik ön işlem olmadan gerçekleştirilen ekstraksiyonda 3,16 mg/g ve klasik ekstraksiyonda ise 1,75 mg/g olarak tespit edilmiştir. Lutein karotenoidi klasik yöntemle göre enzimatik ön işlemli/

enzimatik ön işlem olmadan ultrases destekli ekstraksiyon ile daha etkili bir şekilde ekstrakte edilmiştir (Deenu vd., 2013).

Çizelge 4.2. *Gracilaria dura* makroalginden karotenoid ekstraksiyonunda dördüncü ekstraksiyonun deney koşulları ve karotenoid miktarı (mg β -karoten/kg k.m.).

Örnek	Ultraturaks uygulaması, dk	Ultrases prob uygulama süresi, sn	Enzim	Etanol:Su	Karotenoid miktarı mg β -karoten/kg k.m.
1	5	30	300 μ L Viscozyme L	80:20	10,15 $\pm$ 0,38 ^a
2	5	30	1 g hemiselülaz/ 1 g alg	80:20	8,79 $\pm$ 0,48 ^a
3	5	30	-	80:20	10,97 $\pm$ 0,30 ^a

Nath vd. (2016)'nın çalışmasında kırmızı kapyra biberden (*Capsicum annuum*) enzim destekli karotenoid ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Üç karbonhidraz enzimi olan Viscozyme L, pektinaz ve selülaz enzimleri %0,1; %0,2 ve %0,3 oranlarında kullanılmıştır. Enzim miktarındaki artış, ekstrakt verimini, toplam karotenoidleri, fenolikleri, askorbik asit içeriğini ve antioksidan aktiviteyi önemli ölçüde artırmıştır. Viscozyme L ve pektinaz, karotenoidlerin ve diğer biyoaktif maddelerin selülaza göre önemli ölçüde daha yüksek geri kazanımını sağlamıştır.

Yapılan başka bir çalışmada, karbonhidraz (selülaz, hemiselülaz, pektinaz ve pektinesteraz), lipaz, proteaz ve bunların kombinasyonlarını içeren enzimler, havuçtan α -karoten ve β -karotenin ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Enzim uygulamalarının her iki karotenin de ekstrakte edilebilirliğini artırdığı tespit edilmiştir. Proteaz enziminin tek olarak kullanılmasıyla α -karoten eldesi %35 oranında artmasına rağmen, karbonhidraz-proteaz enzim kombinasyonu ile α -karoten eldesi %39 oranında bir artış göstermiştir. α -Karoten eldesinde genel olarak tek başına kullanılan enzimlere göre kombinasyon enzim uygulamaları daha etkili olmuştur. En yüksek α -karoten ekstrakte edilebilirliği karbonhidraz-lipaz-proteaz kombinasyonu ile gerçekleşmiştir (Jaramillo-Flores vd., 2005).

4.2 Tereyağı örneklerinin kimyasal özelliklerin anlızı

4.2.1 pH

Tereyağı örneklerinin depolama süresince tespit edilen pH değeri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Örneklerin pH sonuçlarına göre, karotenoid miktarı arttıkça pH değeri arttığı görülmüştür ($p<0,05$, Çizelge 4.3). Örneğin, en düşük pH değeri kontrol grubunda tespit edilirken, kontrol örneğinden GT5 örneğine gidildikçe pH değeri artmıştır. Diğer taraftan, kontrol grubu hariç diğer örneklerin pH değerlerinin depolamanın 14. gününden 21. güne gidildikçe arttığı görülmektedir ($p<0,05$, Çizelge 4.3). Örneğin, 14. ve 21. günler arasında kontrol, GT1, GT3 ve GT5 örneklerinin pH değeri sırasıyla $7,06\pm 0,04$ ile $6,99\pm 0,06$; $7,67\pm 0,00$ ile $7,71\pm 0,03$; $7,97\pm 0,00$ ile $7,99\pm 0,04$ ve $8,10\pm 0,00$ ile $8,11\pm 0,03$ değeri arasında değişmiştir ($p<0,05$, Çizelge 4.3). Bununla birlikte, GT3 örneği hariç diğer örneklerin 1. günden 21. güne kadar olan sürede pH değeri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$, Çizelge 4.3). Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi, GT5 örneklerinin pH değeri her ölçümde en yüksek tespit edilmiştir ($p<0,05$). Deniz suyunun pH değeri genellikle 8 ile 8,2 arasında değişmektedir (Skirrow, 1975). Makroalgler genellikle, deniz suyu ile benzer mineral düzeylerine sahip olup, deniz suyundaki mineral içeriğine göre bu değerler de farklılık gösterebilmektedir. Bu durumda, çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ele alındığında depolama süresince pH değerindeki artış *G. dura* makroalginden elde edilen karotenoid ekstraktından kaynaklanabilmektedir (Cotas vd., 2020).

Çizelge 4.3. Tereyağı örneklerinin depolama süresince pH değerlerindeki değişim.

Depolama süresi (gün)	Tereyağı çeşidi			
	K	GT1	GT3	GT5
1	$6,95\pm 0,04^{d,x}$	$7,63\pm 0,09^{c,x}$	$7,88\pm 0,01^{b,y}$	$8,07\pm 0,00^{a,x}$
7	$6,95\pm 0,01^{d,x}$	$7,59\pm 0,01^{c,x}$	$7,91\pm 0,03^{b,xy}$	$8,06\pm 0,03^{a,x}$
14	$7,06\pm 0,04^{d,x}$	$7,67\pm 0,00^{c,x}$	$7,97\pm 0,00^{b,x}$	$8,10\pm 0,00^{a,x}$
21	$6,99\pm 0,06^{c,x}$	$7,71\pm 0,03^{b,x}$	$7,99\pm 0,04^{a,x}$	$8,11\pm 0,03^{a,x}$

K: Kontrol (algal karotenoid içermeyen tereyağı), GT1: %1 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı, GT3: %3 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı, GT5: %5 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı. Aynı satırda bulunan harfler (a, b, c) ve aynı sütunda bulunan farklı harfler (x, y, z) istatistiksel olarak farklılığı gösterir ($p<0,05$).

Gündoğdu ve Çakmakçı (2020), yaptıkları araştırmada *L. lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis* (%2) ve *Leu. mesenteroides subsp. cremoris* (%1) + *L. lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis* (%1) ile üretilen krema tereyağı örneklerinin 60 günlük depolama süresince pH değerleri genel olarak bir atış göstermiş ve başlangıç pH değeriyle depolama sonundaki pH değerleri istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Diğer taraftan, Çakmakçı vd. (2023), yaptıkları çalışmada kontrol, BHT ilaveli ve %1, %2 ve %3 YÇP ilaveli tereyağlarının +4 °C’de 120 günlük depolama süresince 15 günlük aralıklarla pH değerleri ölçülmüştür. YÇP ilaveli örneklerin başlangıç pH değerleri kontrol ve BHT ilaveli örneklerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, depolama süresince pH değerlerinde düşüş gözlemlenmiştir. Bu duruma yeşil çaydaki bazı bileşiklerin neden olabileceği kanısına varılmıştır (Çakmakçı vd., 2023).

Gıdaların işlenmesi ve depolanması sırasında pH değeri, enzimatik aktiviteler, biyokimyasal reaksiyonlar ve mikroorganizmaların gelişmesi gibi birçok kimyasal tepkimeden etkilenmektedir (Stippl vd., 2004). Araştırmamızda elde edilen veriler ile yukarıda anlatılan araştırma sonuçlarının birkaçı farklılık göstermektedir. Bu değerlerdeki farklılıklar hammadde, üretim yöntemi farklılıkları, ilave edilen maddelerin özellikleri, depolama şartları gibi nedenlerden kaynaklanabilir.

4.2.2 Titrasyon asitliği

Titrasyon asitliği ile gıdalardaki toplam asit konsantrasyonu ölçülmektedir. Gıda asitleri genellikle organik asitler olup en yaygın olanları asetik, laktik, malik ve sitrik asittir. Gıdalarda bulunan organik asitler tat, renk, mikrobiyal stabilite ve kaliteyi etkilemektedir (Wehr ve Frank, 2004). Yağ asitleri, sıvı ve katı yağlar içinde esterler halinde bulunur ve ester, alkollerle yağ asitlerinin su çıkışı ile birleştikleri organik bileşikler ifade etmektedir. Titrasyon asitliği, kimyasal olarak esterlenmemiş serbest yağ asitlerini tespit ettiği için, asitlik oluşumunun artmasıyla titrasyon asitliği de artarak yağlı ürünlerde kalite kayıplarına yol açabilmektedir (Ceylan vd., 2022).

Tereyağı örneklerinin depolama süresince tespit edilen titrasyon asitliği değerleri Çizelge 4.4’te verilmiştir. Örneklerin titrasyon değeri sonuçlarına göre GT3 örneği hariç diğer tüm tereyağı örneklerinin depolamanın 1. gününden 14. gününe kadar titrasyon asitliği değerlerinin azaldığı görülmektedir ($p < 0,05$, Çizelge 4.4). Örneğin,

1. ve 14. günler arasında K, GT1, GT3, GT5 örneklerinin titrasyon asitliği değerleri $0,712 \pm 0,00$ ile $0,258 \pm 0,02$; $0,895 \pm 0,00$ ile $0,263 \pm 0,04$, $0,708 \pm 0,00$ ile $0,346 \pm 0,03$ ve $0,713 \pm 0,00$ ile $0,333 \pm 0,09$ değerleri arasında değişmiştir (Çizelge 4.4). Tüm örneklerin depolamanın 7. ve 14. gününde örneklerin ölçülen titrasyon asitliği değerlerindeki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$, Çizelge 4.4). Ayrıca, GT3 örneği hariç diğer örneklerin 7. ve 14. günlerdeki titrasyon asitliği değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$, Çizelge 4.4). Çizelge 4.4'te görüldüğü gibi, depolamanın 1. gününde tüm örneklerin titrasyon asitliği değerleri en yüksektir ($p < 0,05$). Asitlik, pH ve titrasyon asitliği olmak üzere iki farklı şekilde ifade edilmektedir. pH bir örneğin asitlik derecesini, titrasyon asitliği ise o örnek içinde kuvvetli bir bazla titre edilebilen toplam hidrojen iyonu derişimini ifade etmektedir (Crespo vd., 2012). Bu doğrultuda, titrasyon asitliği analizi sonunda bulduğumuz sonuçlar pH değerleriyle paralellik göstermektedir. Depolama süresince pH değerindeki artış ortamda hidrojen iyonunun azaldığını göstermektedir.

Çizelge 4.4. Tereyağı örneklerinde depolama süresince belirlenen titrasyon asitliği (% laktik asit) miktarları.

Depolama süresi (gün)	Tereyağı çeşidi			
	K	GT1	GT3	GT5
1	$0,712 \pm 0,00^{b,x}$	$0,895 \pm 0,00^{a,x}$	$0,708 \pm 0,00^{b,x}$	$0,713 \pm 0,00^{b,x}$
7	$0,286 \pm 0,03^{a,y}$	$0,266 \pm 0,07^{a,y}$	$0,248 \pm 0,08^{a,z}$	$0,369 \pm 0,05^{a,y}$
14	$0,258 \pm 0,02^{a,y}$	$0,263 \pm 0,04^{a,y}$	$0,346 \pm 0,03^{a,yz}$	$0,333 \pm 0,09^{a,y}$
21	$0,404 \pm 0,00^{b,z}$	$0,380 \pm 0,00^{c,xy}$	$0,402 \pm 0,03^{b,x}$	$0,449 \pm 0,00^{a,y}$

K: Kontrol (algal karotenoid içermeyen tereyağı), GT1: %1 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı, GT3: %3 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı, GT5: %5 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı. Aynı satırda bulunan harfler (a, b, c) ve aynı sütunda bulunan farklı harfler (x, y, z) istatistiksel olarak farklılığı gösterir ($p < 0,05$).

Gündoğdu ve Çakmakçı (2020)'nın çalışmalarında, depolama süresince tereyağı örneklerinin titrasyon asitlikleri belirgin olarak düşerken bu düşüşün 15. günden sonra istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca, bu çalışmada depolama sonunda asitlik değerleri $0,26 \pm 0,09$ ile $0,29 \pm 0,09$ arasında değiştiği kaydedilmiştir (Gündoğdu ve Çakmakçı, 2020). Bununla birlikte yapılan başka bir çalışmada, koyun ve keçi sütlerinden yapılan yayık tereyağlarında depolama boyunca titrasyon asitliğinde artış görülürken inek yoğurdundan yapılan tereyağı örneklerinde bir artış kaydedilmemiştir (Şenel vd., 2011). Diğer taraftan, Başçam (2023)'ın yaptığı

çalışmada 6 çeşit üzüm kabuğu ilaveli tereyağı örneklerinin 90 günlük depolama süresince titrasyon asitliği ölçülmüştür. Üzüm kabuğu ilaveli tereyağı örneklerinin titrasyon asitliği en düşük (%0,17) üzüm kabuğu içermeyen örnekte tespit edilirken, Red Globe ilaveli örnekte (%0,27), Crimson Seedless ilaveli örnekte (%0,26) ve Sultani ilaveli örnekte (%0,27) daha yüksek seviyede tespit edilmiştir. Bu değerleri, çalışmamızda elde ettiğimiz titrasyon asitliği değerlerine yakın olduğu söylenebilir.

4.3 Oksidatif stabiliteinin belirlenmesi analizleri

4.3.1 Peroksit değeri

Sıvı ve katı yağların oksidatif bozulmasını takip etmek için yapılan analizler, oksidasyonun birincil ve ikincil aşamalarında meydana gelen kimyasal değişikliklerin tespitini sağlamaktadır. Oksidasyon sırasında oluşan ilk bileşikler, birincil oksidasyon ürünleri olarak adlandırılan peroksitler, özellikle hidroperoksitlerdir. PV en yaygın olarak katı ve sıvı yağlarda oksidasyonun erken aşamalarının bir göstergesi olarak kullanılır (Shahidi ve Wanasundara, 2002).

Tereyağı örneklerinin depolama süresince tespit edilen peroksit değerleri Çizelge 4.5'te verilmiştir. Örneklerin peroksit değeri sonuçlarına göre, karotenoid miktarı arttıkça PV değerinin azaldığı görülmektedir ($p<0,05$, Çizelge 4.5). Örneğin, 1. günde karotenoid içermeyen kontrol örneğinin GT1, GT3, GT5 örneklerine göre PV değerleri daha yüksek çıkmıştır ($p<0,05$, Çizelge 4.5). Diğer taraftan, GT3 hariç diğer örneklerin PV değerlerinin depolamanın 7. gününden 21. güne gidildikçe azaldığı görülmektedir ($p<0,05$, Çizelge 4.5). Örneğin, 1. ve 21. günler arasında K, GT1, GT3, GT5 örneklerinin PV değerleri sırasıyla, $0,0201\pm0,02$ ile $0,0011\pm0,01$; $0,0161\pm0,01$ ile $0,0007\pm0,01$; $0,0095\pm0,01$ ile $0,0005\pm0,02$; $0,0028\pm0,00$ ile $0,0004\pm0,01$ mek O_2 / kg yağ değerleri arasında değişmiştir (Çizelge 4.5). Bununla birlikte, tüm örneklerin 14. ve 21. günlerindeki PV değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$, Çizelge 4.5). Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi, 1. ve 7. günlerde GT3 hariç tüm örneklerin PV değerleri en yüksektir ($p<0,05$).

Çizelge 4.5. Tereyağı örneklerinin depolama süresince peroksit değerlerindeki değişim (mek O₂/kg yağ k.m.).

Depolama süresi (gün)	Tereyağı çeşidi			
	K	GT1	GT3	GT5
1	0,0201±0,02 ^{a,y}	0,0161±0,01 ^{a,x}	0,0095±0,01 ^{a,x}	0,0028±0,00 ^{a,y}
7	0,0406±0,00 ^{a,x}	0,0212±0,02 ^{b,x}	0,0097±0,00 ^{b,x}	0,0097±0,03 ^{b,x}
14	0,0020±0,00 ^{a,z}	0,0012±0,01 ^{b,y}	0,0010±0,01 ^{b,x}	0,0011±0,00 ^{b,y}
21	0,0011±0,01 ^{a,z}	0,0007±0,01 ^{a,y}	0,0005±0,02 ^{a,x}	0,0004±0,01 ^{a,y}

K: Kontrol (algal karotenoid içermeyen tereyağı), GT1: %1 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı, GT3: %3 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı, GT5: %5 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı. Aynı satırda bulunan harfler (a, b, c) ve aynı sütunda bulunan farklı harfler (x, y, z) istatistiksel olarak farklılığı gösterir (p<0,05).

Tespit ettiğimiz sonuçlarda da görülebileceği üzere, oksidasyonda başlangıç ürünleri olan hidroperoksitler depolama süresince parçalanmakta ve peroksit değerinde azalma meydana gelmektedir (Şenel, 2006). Yapılan başka bir çalışmada inek, keçi ve koyun kontrol tereyağlarının 90 günlük depolama süresince tespit edilen peroksit değerleri 0,0-0,55 mek O₂/kg arasında değişmiştir (Tahmas Kahyaoğlu ve Çakmakçı, 2018). Yine yapılan başka bir çalışmada, yoğurt ve kefir kullanılarak üretilen tereyağlarının depolama süresince peroksit değerlerinde azalma olduğu tespit edilmiştir (Anlı vd., 2020). Diğer taraftan, Hayaloğlu (1999)'nun yaptığı bir çalışmada, laboratuvarında üretilen kremadan ve yoğurttan elde edilen tereyağlarının peroksit değerleri 0,0 mek O₂/kg olarak bulunmuştur. Bu durumun, kontrollü üretim ve depolama koşullarından kaynaklandığı ifade edilmiştir. Benzer olarak, Karatepe (2010)'nin yaptığı bir çalışmada 100 ppm eugenol ve thymol esansiyel yağları ilaveli tereyağlarında 180 günlük depolama süresince peroksit değeri tespit edilmemiştir.

4.3.2 TBARS analizi

TBARS analizi yardımıyla doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan son ürün MDA miktarı hesaplanarak, tereyağının oksidasyon seviyesi hakkında bilgi elde edilmektedir (Ayar, 2006). Çalışmamızda, tereyağı örneklerinin depolama süresince tespit edilen TBARS değerleri Çizelge 4.6'da verilmiştir. Örneklerin TBARS değeri sonuçlarına göre, karotenoid miktarı arttıkça TBARS değerinin azaldığı görülmektedir (p<0,05, Çizelge 4.6). Örneğin, 7., 14. ve 21. günlerde algal karotenoid içermeyen kontrol (K) örneklerinin GT1, GT3, GT5 örneklerine kıyasla TBARS değerleri daha yüksek çıkmıştır (p<0,05, Çizelge 4.6). Bu durumun antioksidan aktivitedeki algal

karotenoidlerin varlığından kaynaklandığı söylenebilir. *G.dura* ekstraktının içerdiği yüksek değerlikli bileşeklerden olan karotenoidler, fenolik bileşikler tereyağında oksidasyon mekanizmasını yavaşlatarak sonucun düşük çıkmasına neden olmuş olabilir. Diğer taraftan, GT1 hariç diğer örneklerin TBARS değerlerinin depolamanın 1. gününden 7. güne gidildikçe arttığı görülmektedir ($p<0,05$, Çizelge 4.6). Bununla birlikte, kontrol grubu hariç tüm örneklerin 14. ve 21. günlerindeki TBARS değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$, Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Tereyağı örneklerinin depolama süresince TBARS değerlerindeki değişim (mg malonaldehit/kg yağ k.m.).

Depolama süresi (gün)	Tereyağı çeşidi			
	K	GT1	GT3	GT5
1	0,546±0,00 ^{b,z}	0,761±0,08 ^{a,x}	0,468±0,00 ^{b,x}	0,215±0,00 ^{c,y}
7	0,741±0,00 ^{a,x}	0,683±0,08 ^{a,xy}	0,507±0,17 ^{a,x}	0,488±0,03 ^{a,x}
14	0,741±0,00 ^{a,x}	0,351±0,04 ^{d,z}	0,468±0,00 ^{b,x}	0,390±0,00 ^{c,x}
21	0,702±0,00 ^{a,y}	0,468±0,00 ^{b,yz}	0,488±0,03 ^{b,x}	0,507±0,06 ^{b,x}

K: Kontrol (algal karotenoid içermeyen tereyağı), GT1: %1 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı, GT3: %3 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı, GT5: %5 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı. Aynı satırda bulunan harfler (a, b, c) ve aynı sütunda bulunan farklı harfler (x, y, z) istatistiksel olarak farklılığı gösterir ($p<0,05$).

Çalışmamızda, Şekil 3.4'te görüldüğü gibi, örnekler depolama boyunca uygun şekilde ambalajlanarak ısı, ışık, oksijen gibi oksidasyonu teşvik eden faktörler elimine edilmeye çalışılmıştır. Bu nedenle, paket içi gaz ölçümü yapılamamış olmakla birlikte, 1. ve 7. günlerde ambalaj içerisinde bulunan oksijen yağların oksidasyonuna neden olurken, sonraki günlerde paket içerisindeki oksijen miktarı kapalı ambalaj olduğundan azalmış ve/veya düşük miktarda oksijen geçişi olduğundan daha düşük PV ve TBARS değerleri elde edilmiş olunabilir. Oksidasyon ürünlerinden olan MDA'nın stabilitesi üzerine Vandemoortele vd. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, lipid oksidasyonu sırasında üretilen MDA, ilk oluşumundan sonra ardışık reaksiyonlar nedeniyle stabilitesini yitirmekte ve tespit edilememektedir. Bu nedenle, bizim çalışmamızda da 1. ve 7. günlerde tespit edilen MDA sonraki günlerde tespit edilememiş olabilir. Benzer olarak, yapılan bir başka çalışmada da, tavuk etlerinin pişirilmesi sırasında MDA hızlı bir artış gösterdikten sonra azalmaya başlamıştır (Roux vd., 2014). Çalışmamıza benzer olarak, Mansour ve Sindi (2024)'nin yaptıkları çalışmada kontrol tereyağı, %0,5 ve %1 oranında hurma çekirdeklerinin tozu ve

ekstraktı ilaveli tereyağının 60 °C’de 21 gün boyunca depolanması sırasında oksidasyon stabilitesi araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, 21. gün sonunda hurma çekirdeği tozu içeren örneklerde peroksit ve TBARS değerlerinde azalma tespit edilmiştir. Araştırma sonunda hurma çekirdeği tozunun tereyağının oksidatif stabilitesini artırdığı kanısına varılmıştır. Diğer taraftan, Najgebauer-Lejk vd. (2009)’nin yaptıkları çalışmada, kontrol tereyağı ve %2 adaçayı ve biberiye ilaveli tereyağı hazırlanmış ve +4 °C’de 5 ay boyunca depolanarak TBARS değerleri ölçülmüştür. Depolama sonunda adaçayı ve biberiye ilaveli tereyağının TBARS seviyesinin kontrol tereyağına göre daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

4.4 Antioksidan aktivite analiz sonuçları

Bu bölümde tereyağı örneklerinin antioksidan kapasitesini ölçmek amacıyla ABTS, CUPRAC ve DPPH analizleri gerçekleştirilmiştir. ABTS ve CUPRAC yöntemleri, örneklerde oluşan bulanıklık nedeniyle spektrofotometrik olarak ölçülemez (Şekil 4.1). Bu nedenle, örneklerin antioksidan aktivitelerini ölçmek için DPPH yöntemi kullanılmıştır.



Şekil 4.1. ABTS antioksidan tayin yönteminde oluşan bulanıklık.

Tereyağı örneklerinin depolama süresince tespit edilen antioksidan aktivite değerleri Çizelge 4.7’de verilmiştir. Örneklerin DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite sonuçlarına göre, karotenoid miktarı arttıkça antioksidan aktivitenin arttığı görülmektedir ($p < 0,05$, Çizelge 4.7). Örneğin, depolamanın 7. gününde kontrol grubunda antioksidan aktivite gözlemlenmezken GT1, GT3 ve GT5 örneklerinin antioksidan aktiviteleri sırasıyla $0,021 \pm 0,00$; $0,064 \pm 0,01$ ve $0,166 \pm 0,17$ mg TE/g yağ k.m. olarak ölçülmüştür. Bununla birlikte, GT3 ve GT5 örneklerinin 14. günlerindeki

antioksidan aktiviteleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$, Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Tereyağı örneklerinin depolama süresince antioksidan aktivitelerindeki değişim (mg TE/g yağ).

Depolama süresi (gün)	Tereyağı çeşidi			
	K	GT1	GT3	GT5
1	0	0	0,145±0,03 ^{b,x}	0,237±0,01 ^{a,x}
7	0	0,021±0,00 ^c	0,064±0,01 ^{b,y}	0,166±0,17 ^{a,y}
14	0	0	0,044±0,02 ^{a,z}	0,047±0,01 ^{a,z}
21	0	0	0	0

K: Kontrol (algal karotenoid içermeyen tereyağı), GT1: %1 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı, GT3: %3 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı, GT5: %5 oranında *Gracilaria dura* ekstraktı ilaveli tereyağı. Aynı satırda bulunan harfler (a, b, c) ve aynı sütunda bulunan farklı harfler (x, y, z) istatistiksel olarak farklılığı gösterir ($p<0,05$).

Bulut (2019)'un yaptığı çalışmada kontrol ve üç farklı oranda kuru kayısı (%15, 20 ve 25) ilaveli tereyağlarının 60 günlük depolama süresince antioksidan özellikleri incelenmiştir. Çalışmamıza benzer olarak, kayısı ilave edilen tereyağı örneklerinin toplam antioksidan madde miktarının kontrol grubundan önemli düzeyde yüksek çıktığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, toplam antioksidan değerlerinin tereyağına ilave edilen kayısı oranı arttıkça da arttığı görülmüştür. Ayrıca, Thakaeng vd. (2020)'nin yaptıkları bir çalışmada, % 2-10 oranlarında yeşil çay (*Camellia sinensis* L.) ekstraktı ilaveli tereyağı örneklerinde kontrol grubuna kıyasla daha yüksek oranlarda toplam fenolik içerik ve DPPH yöntemi ile AOA tespit edilmiştir. Diğer yandan, %0,05, %0,1 ve %0,2 oranlarında çörekotu yağının ilave edildiği tereyağı örnekleri ile sentetik antioksidan BHT (100 ppm) ilaveli tereyağı örneklerinin kıyaslandığı bir çalışmada, %0,2 oranında çörekotu yağı ilavesi, BHT ile yakın etkide antioksidan etki gösterdiği rapor edilmiştir (Çakmakçı vd., 2014).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, kırmızı bir makroalg olan *Gracilaria dura*'dan karotenoid ekstraktı ilaveli tereyağının depolama süresince fizikokimyasal özellikleri ile antioksidan aktivite ve oksidasyon stabilitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla kontrol tereyağı (*Gracilaria dura* karotenoid ekstraktı içermeyen) ve farklı oranlarda (%1, %3 ve %5) *Gracilaria dura* karotenoid ekstraktı ilaveli tereyağları 2 tekrarlı olarak hazırlanmıştır. Tereyağı örnekleri +4 °C'de 21 gün boyunca muhafaza edilerek depolamanın her 7. gününde bir pH, titrasyon asitliği, peroksit değeri, TBARS değeri ve antioksidan aktivitesi araştırılmıştır.

Çalışmanın sonuçlarına göre, tereyağı örneklerinin karotenoid miktarı arttıkça pH değerinin ve antioksidan aktivitesinin arttığı, peroksit ve TBARS değerlerinin azaldığı görülmüştür ($p<0,05$). Örneğin, en düşük pH değerleri kontrol grubunda tespit edilirken, kontrol örneğinden %5 *G. dura* ekstraktı ilaveli tereyağı örneğine gidildikçe pH değerleri artmıştır. Bununla birlikte, %3 *G. dura* ekstraktı ilaveli örnek hariç diğer örneklerin 1. günden 21. güne kadar olan sürede pH değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Tüm tereyağı örneklerinin, en yüksek titrasyon asitliği değerine depolamanın 1. gününde ulaşılmıştır. Depolamanın diğer günlerinde tespit edilen titrasyon asitliği değerleri, farklı bitki ilaveli tereyağlarının değerleri ile benzer sonuçlar göstermiştir.

Tereyağı örnekleri depolama boyunca uygun şekilde ambalajlanarak ısı, ışık, oksijen gibi oksidasyonu teşvik eden faktörler elimine edilmeye çalışılmıştır. Bu nedenle, 1. ve 7. günlerde ambalaj içerisinde bulunan oksijen, yağların oksidasyonuna neden olurken, sonraki günlerde muhtemelen paket içerisindeki oksijen miktarı azaldığından daha düşük PV ve TBARS değerleri elde edilmiş olunabilir. Sonraki çalışmalarda, tereyağı paketlerinde paket içi gaz ölçümleri yapılarak oksijen düzeyleri ölçülebilir. Depolama boyunca TBARS ve peroksit değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. Örneklerde çok düşük seviyede peroksit değerleri tespit edilmiştir. Diğer taraftan, depolamanın 7., 14. ve 21. günlerinde karotenoid içermeyen kontrol örneklerinin %1, %3, %5 *G. dura* ekstraktı ilaveli örneklerle kıyasla TBARS değerleri daha yüksek çıkmıştır. Bu durumun antioksidan aktivitedeki algal karotenoidlerin varlığından kaynaklandığı söylenebilir. Tereyağlarında lipit oksidasyonunun azalması

ile oksidasyon stabilitesi artmıştır. Diğer taraftan, %5 *G. dura* ekstraktı ilaveli tereyağında antioksidan aktivite en yüksek bulunmuştur. Örneklerin antioksidan aktivite değeri sonuçlarına göre, karotenoid miktarı arttıkça antioksidan aktivitenin arttığı görülmektedir

Bildiğimiz kadarıyla, Türkiye denizlerinden toplanan *Gracilaria dura* makroalginden karotenoidlerin tereyağına ilavesi ve depolama boyunca pH, titrasyon asitliği, antioksidan aktivitesi ve oksidasyon durumunun araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Sonuçlar, bir doğal antioksidan kaynağı olarak *G.dura*'dan karotenoid ekstraktlarının tereyağına ilavesi ile tereyağının depolama boyunca oksidasyonu karşı stabilite gösterebileceği ortaya konulmuştur. Bununla birlikte, gelecek çalışmalarda, tereyağ örneklerinin renk, viskozite ve tekstürel analizlerinin yanı sıra duyuasal analizlerinin yapılması mümkündür. Ayrıca, bu çalışma kapsamında elde edilen *Gracilaria dura*'dan karotenoid ekstraktlarının farklı gıda ürünlerindeki etkileri araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- Abeyrathne, E.D.N.S., Nam, K. ve Ahn, D. U., 2021. Analytical methods for lipid oxidation and antioxidant capacity in food systems, *Antioxidants*, 10, 10, 1587.
- Akbarieh, N., Sadighara, P., Shariatifar, N., Molaee-Aghaee, E. ve Aslani, R., 2022. Lipid peroxidation in sheep and cow traditional butter obtained from southern Tehran Iran, *J. Food Safety*, 8, 4, 237-242.
- Alganesh, T. G. ve Yetenayet, B. T., 2017. Traditional butter and ghee production, processing and handling in Ethiopia: a review, *African Journal of Food Science*, 11, 95-105.
- Alipour, A., Marhamatizadeh, M. ve Mohammadi, M., 2021. Effect of fucoidan extracted from *Sargassum angustifolium* (brown seaweed) on oxidative stability of butter produced from sour sream, *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 52, 1, 31-37.
- Ames, B. N., Shigenag, M. K. ve Hagen, T. M., 1993. Oxidants, antioxidant and the degenerative diseases of aging, *Processing of the National Academic Science*, 90, 7915-7922.
- Amorati, R. ve Valgimigli, L., 2018. Methods to measure the antioxidant activity of phytochemicals and plant extracts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 3324–3329.
- Andrés-Bello, A., Barreto-Palacios, V., García-Segovia, P., Mir-Bel, J. ve Martinez-Monzo, J., 2013. Effect of pH on color and texture of food products, *Food Engineering Reviews*, 5, 3, 158-170.
- Angelo, J. St., Vercellotti, J., Jacks, T. Ve Legendre, M., 1996. Lipid oxidation in foods, *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 36, 3, 175-224.
- Anguelova, T. ve Warthesen, J., 2000. Lycopene stability in tomato powders *Journal of Food Science*, 65, 1, 67-70.
- Anlı, E. A., Şanlı, T. ve Şenel, E., 2020. Yoğurt ve kefir kullanılarak üretilen tereyağlarının bazı özelliklerinin incelenmesi, *Gıda/The Journal of Food*, 45, 3, 461-472.
- 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, 26, 7970-7981.
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K. ve Çapanoğlu, E., 2016. Antioxidant activity/capacity measurement. 2. Hydrogen atom transfer (HAT)-based, mixed-mode (electron transfer (ET)/HAT), and lipid peroxidation assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 5, 1028–1045.

- Apak, R., Çapanoğlu, E. ve Shahidi, F., 2018. Measurement of antioxidant activity and capacity-Recent trends and applications, John Wiley & Sons Ltd.: Hoboken, New Jersey, USA.
- Arnao, M. B., 2000. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case, Trends in Food Science & Technology, 11, 11, 419-421.
- Atamer, M., 1993. Tereyağı teknolojisi uygulama klavuzu, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 1314, Ankara.
- Atta, E. M., Mohamed, N. H. ve Abdelgawad, A. A., 2017. Antioxidants: An overview on the natural and synthetic types. European Chemical Bulletin, 6, 8, 365-375.
- Ayar, A., Özcan, M., Sert, D. ve Arslan, D., 2006. Yayı tereyağının raf ömrünün uzatılmasına bazı baharat, uçucu yağ ve ekstraktlarının katkısı, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK), Proje No:105O046, Konya.
- Aydın, S., 2018. Tereyağının bazı özellikleri ve oksidasyon stabilitesi üzerine Taşköprü sarımsağı ve sentetik antioksidan ilavesinin etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kastamonu.
- Barkia, I., Saari, N. ve Manning, S. R., 2019. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition, Marine Drugs, 17, 5, 304.
- Başçam, Z., 2023. Tereyağının oksidasyon stabilitesi ve fonksiyonel özellikleri üzerine farklı üzüm çeşidi kabuğu biyoaktif bileşenlerinin etkisi, Doktora Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Bednarczyk, K., Matysiak, W., Tański, T., Janeczek, H., Schab-Balcerzak, E. ve Libera, M., 2021. Effect of polyaniline content and protonating dopants on electroconductive composites, Scientific Reports, 11, 1, 7487.
- Behnlian, D. ve Mayer-Miebach, E., 2017. Impact of blanching, freezing and frozen storage on the carotenoid profile of carrot slices (*Daucus carota* L. cv. Nutri Red), Food Control, 73, 761-767.
- Bennedsen, M., Wang, X., Willén, R., Wadström, T. ve Andersen, L. P., 2000. Treatment of *H. pylori* infected mice with antioxidant astaxanthin reduces gastric inflammation, bacterial load and modulates cytokine release by splenocytes, Immunology Letters, 70, 3, 185-189.
- Benzie, I. F. ve Strain, J. J., 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration, Methods in Enzymology, 299, 15-27.
- Bhosale, P. ve Bernstein, P. S., 2007. Vertebrate and invertebrate carotenoid-binding proteins, Archives of Biochemistry and Biophysics, 458, 2, 121-127.

- Biancarosa, I., Belghit, I., Bruckner, C. G., Liland, N. S., Waagbø, R., Amlund, H. ve Lock, E. J., 2018. Chemical characterization of 21 species of marine macroalgae common in Norwegian waters: benefits of and limitations to their potential use in food and feed, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 5, 2035-2042.
- Bianchi, T. S., Kautsky, L. ve Argyrou, M., 1997. Dominant chlorophylls and carotenoids in macroalgae of the Baltic Sea (Baltic proper): their use as potential biomarkers, *Sarsia*, 82, 1, 55-62.
- Biris-Dorhoi, E. S., Michiu, D., Pop, C. R., Rotar, A. M., Tofana, M., Pop, O. L. ve Farcas, A. C., 2020. Macroalgae-A sustainable source of chemical compounds with biological activities, *Nutrients*, 12, 10, 3085.
- Bixler, H. J. ve Porse, H., 2011. A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology*, 23, 3, 321–335.
- Boëchat, I. G. ve Giani, A., 2000. Factors affecting biochemical composition of seston in an eutrophic reservoir (Pampulha Reservoir, Belo Horizonte, MG), *Revista Brasileira de Biologia*, 60, 63-71.
- Bongaarts, J., 2021. FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO The State of Food Security and Nutrition in the World 2020. Transforming food systems for affordable healthy diets FAO, 2020, 320.
- Bouzari, A., Holstege, D. ve Barrett, D. M., 2015. Vitamin retention in eight fruits and vegetables: a comparison of refrigerated and frozen storage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 3, 957-962.
- Bozdemir, A., Şensu, E., Okudan, E. Ş., Özçelik, B. ve Yüce-tepe, A., 2022. Ultrasound-assisted enzymatic extraction of proteins from *Gracilaria dura*: Investigation of antioxidant activity and techno-functional properties, *Journal of Food Processing and Preservation*, 46, 8.
- Bozhko, N., Tischenko, V., Pasichnyi, V., Marynin, A. ve Polumbryk, M., 2017. Analysis of the influence of rosemary and grape seed extracts on oxidation the lipids of peking duck meat, *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 4, 11, 4-9.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A. ve Igic, R., 2008. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., *Alliaceae*), *Food Chemistry*, 111, 4, 925-929.
- Bulut, M., 2019. Kuru kayısı ilavesi ile üretilen tereyağlarında depolama süresince bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, Gümüşhane Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gümüşhane*.
- Burton, G. W., 1989. Antioxidant action of carotenoids, *Journal of Nutrition*, 119, 1, 109–111.

- Buttriss, J. L., Hughes, J., Kelly, C. N. ve Stanner, S., 2002. Antioxidants in food: A summary of the review conducted for the Food Standards Agency, Nutrition Bulletin, 27, 4, 227-236.
- Büyüktuncel, E., 2013. Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler, Marmara Pharmaceutical Journal, 17,2, 93-103.
- Capo, T. R., Jaramillo, J. C., Boyd, A. E., Lapointe, B. E. ve Serafy, J. E., 1999. Sustained high yields of *Gracilaria* (Rhodophyta) grown in intensive large-scale culture. Journal of Applied Phycology, 11, 143–147.
- Carvalho, L. M. J. D., Smiderle, L. D. A. S. M., Carvalho, J. L. V. D., Cardoso, F. D. S. N. ve Koblitiz, M. G. B., 2014. Assessment of carotenoids in pumpkins after different home cooking conditions, Food Science and Technology, 34, 365-370.
- Ceylan, M. M., Bulut, M., Alwazeer, D. ve Koyuncu, M., 2022. Evaluation of the impact of hydrogen-rich water on the quality attribute notes of butter, Journal of Dairy Research, 89, 4, 431-439.
- Choe, E. ve Min, D. B., 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 5, 4, 169–186.
- Chopin, T. Ve Tacon, A. G., 2021. Importance of seaweeds and extractive species in global aquaculture production, Reviews in Fisheries Science & Aquaculture, 29, 2, 139-148.
- Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I. ve Florou-Paneri, P., 2013. Functional properties of carotenoids originating from algae, Journal of the Science of Food and Agriculture, 93, 1, 5-11.
- Christen, W. G., Gaziano, J. M. ve Hennekens, C. H., 2000. Design of Physicians' Health Study II—a randomized trial of beta-carotene, vitamins E and C, and multivitamins, in prevention of cancer, cardiovascular disease, and eye disease, and review of results of completed trials, Annals of Epidemiology, 10, 2, 125-134.
- Christodouleas, D. C., Fotakis, C., Nikokavoura, A., Papadopoulos, K. ve Calokerinos, A. C., 2015. Modified DPPH and ABTS assays to assess the antioxidant profile of untreated oils, Food Analytical Methods, 8, 1294-1302.
- Cikoš, A. M., Flanjak, I., Bojanić, K., Babić, S., Čižmek, L., Čož-Rakovac, R. ve Jerković, I., 2021. Bioprospecting of coralline red alga *Amphiroa rigida* JV Lamouroux: Volatiles, fatty acids and pigments, Molecules, 26, 3, 520.
- Cotas, J., Leandro, A., Pacheco, D., Gonçalves, A. M. M. ve Pereira, L., 2020. A comprehensive review of the nutraceutical and therapeutic applications of red seaweeds (Rhodophyta), Life, 10, 19, 1-23.

- Cömert, E. D. ve Gökmen, V., 2018. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century, *Food Research International*, 105, 76–93.
- Crespo, G. A., Afshar, M. G. ve Bakker, E., 2012. Direct detection of acidity, alkalinity, and pH with membrane, *Analytical Chemistry*, 84, 10165-10169.
- Çakmakçı, S., Gündoğdu, E., Dağdemir, E. ve Erdoğan, Ü., 2014. Investigation of the possible use of black cumin (*Nigella sativa* L.) essential oil on butter stability, *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 20, 4, 533-539.
- Çakmakçı, S., Öz, E., Çakıroğlu, K., Polat, A., Gülçin, İ., Ilgaz, Ş., Seyyedcheraghi, K. ve Özhamamcı, İ., 2019. Probiotic shelf life, antioxidant, sensory, physical and chemical properties of yogurts produced with *Lactobacillus acidophilus* and green tea powder, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25, 5, 673-682.
- Çakmakçı, S., Gülçin, İ., Gündoğdu, E., Ertem Öztekin, H. ve Taslimi, P., 2023. The comparison with commercial antioxidants, effects on colour, and sensory properties of green tea powder in butter, *Antioxidants*, 12, 8, 1522.
- Çetik, S., Ayhanci, A. ve Şahintürk, V., 2015. Protective effect of carvacrol against oxidative stress and heart injury in cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rat, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58, 569-576.
- Das, A., Yoon, S. H., Lee, S. H., Kim, J. Y., Oh, D. K. ve Kim, S. W., 2007. An update on microbial carotenoid production: application of recent metabolic engineering tools, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77, 505-512.
- Daşkaya-Dikmen, C., Yüce-tepe, A., Karbancıoğlu-Güler, F., Daşkaya, H. ve Özcelik, B., 2017. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE)-inhibitory peptides from plants, *Nutrients*, 9, 4, 316.
- Dawes, C. J., 1998. *Marine Botany*, John Wiley and Sons Inc, New York, USA.
- Debbarama, J., Rao, B. M., Murthy, L. N., Mathew, S., Venkateshwarlu, G. ve Ravishankar, C., 2016. Nutritional profiling of the edible seaweeds *Gracilaria edulis*, *Ulva lactuca* and *Sargassum* sp., *Indian Journal Fish*, 63, 3, 81–87.
- Deenu, A., Naruenartwongsakul, S. ve Kim, S. M., 2013. Optimization and economic evaluation of ultrasound extraction of lutein from *Chlorella vulgaris*, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18, 1151-1162.
- Deepika, C., Wolf, J., Roles, J., Ross, I. ve Hankamer, B., 2022. Sustainable production of pigments from cyanobacteria, In *Cyanobacteria in Biotechnology: Applications and Quantitative Perspectives*, Cham: Springer International Publishing.

- Dekkers, J. C., van Doornen, L. J. P. ve Kemper, H. C., 1996. The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage, *Sports Medicine*, 21, 213-238.
- Dembitsky, V. M. ve Maoka, T., 2007. Allenic and cumulenenic lipids, *Progress in Lipid Research*, 46, 6, 328-375.
- Denizci, A. A., 1990. *Phaffia rhodozyma* NRRLY-10921 mayası ile astaksantin pigmentinin üretimi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Deventer, B. ve Heckman, C. W., 1996. Effects of prolonged darkness on the relative pigment content of cultured diatoms and green algae, *Aquatic Sciences*, 58, 241-252.
- Dominguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F.J., Zhang, W. ve Lorenzo, J.M., 2019. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products, *Antioxidants*, 8, 2-31.
- Dudonne, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M. ve Merillon, J.M., 2009. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 1768–1774.
- Dugave, C. ve Demange, L., 2003. Cis–trans isomerization of organic molecules and biomolecules: implications and applications, *Chemical Reviews*, 103, 7, 2475-2532.
- El-Agamey, A., Lowe, G. M., McGarvey, D. J., Mortensen, A., Phillip, D. M., Truscott, T. G. ve Young, A. J., 2004. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 430, 1, 37-48.
- El-Gamal, A. A., 2010. Biological importance of marine algae, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 18, 1, 1-25.
- Eser, İ. H. ve İnanç, A. L., 2022. Farklı yöntemlerle Anadolu manda tereyağı üretimi, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19, 1, 215-226.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020. The state of world fisheries and aquaculture: sustainability in action, 1–206.
- Ferreira, M., Teixeira, C., Abreu, H., Silva, J., Costas, B., Kiron, V. ve Valente, L. M., 2021. Nutritional value, antimicrobial and antioxidant activities of micro and macroalgae, single or blended, unravel their potential use for aquafeeds, *Journal of Applied Phycology*, 33, 6, 3507-3518.
- Figuerola, F. L., Bonomi-Barufi, J., Celis-Plá, P. S., Nitschke, U., Arenas, F., Connan, S. ve Stengel, D. B., 2021. Short-term effects of increased CO₂, nitrate and

- temperature on photosynthetic activity in *Ulva rigida* (Chlorophyta) estimated by different pulse amplitude modulated fluorometers and oxygen evolution, *Journal of Experimental Botany*, 72, 2, 491-509.
- Fleurence, J., 2004. Seaweed Proteins. In *Proteins in Food Processing*, Elsevier Ltd., Amsterdam, The Netherlands.
- Fleurence, J., Moránçais, M. ve Dumay, J., 2018. Seaweed proteins. In *Proteins in Food Processing*, Woodhead Publishing, 245-262.
- Fox, P. F., Singh, T. K. ve McSweeney, P. L. H., 1995. Biogenesis of flavour compounds in cheese. *Chemistry of structure-function relationships in cheese*, *Advances Experimental Medicine Biology*, 367, 59-98.
- Frankel, E. N., Huang, S. W., Prior, E. ve Aeschbach, R., 1996. Evaluation of antioxidant activity of rosemary extracts, carnosol and carnosic acid in bulk vegetable oils and fish oil and their emulsions, *Journal of the Science of Food Agriculture*, 72, 201-208.
- Frassini, R., Silva, Y. P. D., Moura, S., Villela, L. Z., Martins, A. P., Colepicolo, P. ve Roesch-Ely, M., 2019. Chemical characterization and cytotoxic activity of antarctic macroalgae extracts against colorectal cancer, *Advances in Biological Chemistry*, 9,5, 167-177.
- García-Alonso, F. J., Bravo, S., Casas, J., Perez-Conesa, D., Jacob, K. ve Periago, M. J., 2009. Changes in antioxidant compounds during the shelf life of commercial tomato juices in different packaging materials, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 15, 6815-6822.
- Ghosh, S., Sarkar, T., Das, A. ve Chakraborty, R., 2022. Natural colorants from plant pigments and their encapsulation: An emerging window for the food industry, *Lwt*, 153, 112527.
- Gordalina, M., Pinheiro, H. M., Mateus, M., da Fonseca, M. M. R. ve Cesário, M. T., 2021. Macroalgae as protein sources-a review on protein bioactivity, extraction, purification and characterization, *Applied Sciences*, 11, 17, 7969.
- Gordon, K. D., Misselt, K. A., Witt, A. N. ve Clayton, G. C., 2001. The DIRTY model. I. Monte Carlo radiative transfer through dust, *The Astrophysical Journal*, 551, 1, 269.
- Grabowski, R., Ilowska, J., Chrobak, J., Szmatoła, M., Drabik, J. ve Trzos, M., 2018. Methods of the modification of vegetable oils in order to obtain base oils, *Tribologia*, 6, 23–29.
- Grahl-Nielsen, O., 1999. Comment: Fatty acid signatures and classification trees: New tools for investigating the foraging ecology of seals, *Canadian Journal Fisheries and Aquatic Science*, 56, 2219–2223.

- Gramza-Michalowska, A., Korczak, J. ve Regula, J., 2007. Use of plant extracts in summer and winter season butter oxidative stability improvement, *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16, 1, 85-88.
- Gülçin, I., 2020. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview, *Archives of Toxicology*, 94, 651–715.
- Gündoğdu, E. ve Çakmakçı, S., 2020. Farklı starter kültürler ile yoğurt ve kremadan üretilen tereyağlarının oksidasyon stabilitesi ve bazı özellikleri, *Akademik Gıda*, 18, 3, 279-287.
- Hamilton, R. J., Kalu, C., Prisk, E., Padley, F. B. ve Pierce, H., 1997. Chemistry of free radicals in lipids, *Food Chemistry*, 60, 2, 193-199.
- Hanahan, D. J. ve Nelson, D. R., 1984. Phospholipids as dynamic participants in biological processes, *Journal of Lipid Research*, 25, 13, 1528-1535.
- Harasym, J. ve Oledzki, R., 2014. Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma, *Nutrition*, 30, 511–517.
- Hayaloğlu, A. A., 1999. Malatya yöresinde kremadan ve yoğurttan elde edilen çeşitli tereyağlarının fizikokimyasal mikrobiyolojik ve duyuşal nitelikleri üzerine karşılaştırmalı bir araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Hendek, M. K. ve Erdemir, E. O., 2012. Periodontal hastalık ve lipoksinler, *Kastamonu Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 14, 2, 24-32.
- Hemmingson, J. A., Furneaux, R. X. ve Murray-Brown, V. H., 1996. Biosynthesis of agar polysaccharides in *Gracilaria chilensis* bird, McLachlan et Olivira, *Carbohydrate Research*, 287, 101- 115.
- Heo, S. J., Ko, S. C., Kang, S. M., Kang, H. S., Kim, J. P., Kim, S. H. ve Jeon, Y. J., 2008. Cytoprotective effect of fucoxanthin isolated from brown algae *Sargassum siliquastrum* against H₂O₂-induced cell damage, *European Food Research and Technology*, 228, 145-151.
- Heo, S. J. ve Jeon, Y. J., 2009. Protective effect of fucoxanthin isolated from *Sargassum siliquastrum* on UV-B induced cell damage, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 95, 2, 101-107.
- Hoek, C., Mann, D. G. ve Jahns, H. M., 1995. *Algae: an introduction to phycology*, Cambridge university press, Cambridge, England.
- Holdt, S. L. ve Kraan, S., 2011. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation, *Journal of Applied Phycology*, 23, 543-597.
- Hosokawa, M., Wanezaki, S., Miyauchi, K., Kurihara, H., Kohno, H., Kawabata, J. ve Takahashi, K., 1999. Apoptosis-inducing effect of fucoxanthin on human

- leukemia cell line HL-60, Food Science and Technology Research, 5, 3, 243-246.
- Hosseinkhani, N., McCauley, J. I. ve Ralph, P. J., 2022. Key challenges for the commercial expansion of ingredients from algae into human food products, Algal Research, 64, 102696.
- Hu, C. C., Lin, J. T., Lu, F. J., Chou, F. P. ve Yang, D. J., 2008. Determination of carotenoids in *Dunaliella salina* cultivated in Taiwan and antioxidant capacity of the algal carotenoid extract, Food Chemistry, 109, 2, 439-446.
- Huppertz, T., Kelly, A. L. ve Fox, P. F., 2009. Milk lipids-composition, origin and properties, In Dairy Fats and Related Products; Tamime, A.Y., Ed.; Blackwell Publishing: Hoboken, New Jersey, USA.
- İlknur, A. K. ve Turker, G., 2018. Antioxidant properties and phytochemicals of three brown macro algae from the Dardanelles (Çanakkale) strait, Agricultural Science & Technology, 10, 4, 1313-8820.
- Jain, A., Jain, R. ve Jain, S., 2020. Analysis of butter, Basic Techniques in Biochemistry, Microbiology and Molecular Biology, 235-242.
- Jaramillo-Flores, M. E., Lugo-Martínez, J. J., Ramírez-Sanjuan, E., Montellano-Rosales, H., Dorantes-Alvarez, L. ve Hernández-Sánchez, H., 2005. Effect of sodium chloride, acetic acid, and enzymes on carotene extraction in carrots (*Daucus carota* L.), Journal of Food Science, 70, 2, 136-142.
- Jaswir, I., Noviendri, D., Hasrini, R. F. ve Octavianti, F., 2011. Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry, Journal of Medicinal Plants Research, 5, 33, 7119-7131.
- Jeon, S. M., Kim, H. J., Woo, M. N., Lee, M. K., Shin, Y. C., Park, Y. B. ve Choi, M. S., 2010. Fucoxanthin-rich seaweed extract suppresses body weight gain and improves lipid metabolism in high-fat-fed C57BL/6J mice, Biotechnology Journal, 5, 9, 961-969.
- Jo, C. ve Ahn, D. U., 1998. Fluorometric analysis of 2-thiobarbituric acid reactive substances in turkey, Poultry Science, 77, 475-480.
- Jung, H. A., Islam, M. N., Lee, C. M., Jeong, H. O., Chung, H. Y., Woo, H. C. ve Choi, J. S., 2012. Promising antidiabetic potential of fucoxanthin isolated from the edible brown algae *Eisenia bixyclis* and *Undaria pinnatifida*, Fisheries Science, 78, 1321-1329.
- Jung, S., Nam, K.C. ve Jo, C., 2016. Detection of malondialdehyde in processed meat products without interference from the ingredients, Food Chemical, 209, 90-94.
- Kaczmariski, M., Wojcicki, J., Samochowiec, L., Dutkiewicz, T. ve Sych, Z., 1999. The influence of exogenous antioxidants and physical exercise on some

parameters associated with production and removal of free radicals, *Die Pharmazie*, 54, 4, 303-306.

Kader, A., Zagory, D., Kerbel, E. L. ve Wang, C. Y., 1989. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables, *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 28, 1, 1-30.

Kanda, H., Wahyudiono, Machmudah, S. ve Goto, M., 2020. Direct extraction of lutein from wet macroalgae by liquefied dimethyl ether without any pretreatment, *Acs Omega*, 5, 37, 24005-24010.

Karatepe, P., 2010. Eugenol ve thymol'ün pastörize tereyağının kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal kalitesi üzerine etkisi, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

Karatepe, P. ve Patır, B., 2012. Eugenol ve thymol'ün pastörize tereyağının kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal kalitesi üzerine etkisi, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 26, 35–46.

Kazir, M., Abuhassira, Y., Robin, A., Nahor, O., Luo, J., Israel, 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.

Kerton, F. M., Liu, Y., Omaria, K. W. ve Hawboldt, K., 2013. Green chemistry and the ocean-based biorefinery, *Green Chemical*, 15, 860–871.

Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J. ve Lee, C. Y., 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3713–3717

Kiritsakis, A. ve Dugan, L.R., 1985. Studies in photooxidation of olive oil, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 62, 892-896.

Klaus, A. ve Heribert, H., 2004. Antioxidants, *Annual Review of Plant Biology*, 55, 373-399.

Knothe, G., 2002. Structure indices in FA chemistry. How relevant is the iodine value?, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79, 847–854.

Koizumi, J., Takatani, N., Kobayashi, N., Mikami, K., Miyashita, K., Yamano, Y. ve Hosokawa, M., 2018. Carotenoid profiling of a red seaweed *Pyropia yezoensis*: insights into biosynthetic pathways in the order Bangiales, *Marine Drugs*, 16, 11, 426.

Konda, N. M., Singh, S., Simmons, B. A. ve Klein-Marcuschamer, D., 2015. An investigation on the economic feasibility of macroalgae as a potential feedstock for biorefineries, *BioEnergy Research*, 8, 1046-1056.

- Konstantin, B., Anastasia, P., Nikolay, I. ve Daria, P., 2023. Seasonal variations in the chemical composition of Arctic brown macroalgae, *Algal Research*, 72, 103112.
- Kosanić, M., Ranković, B. ve Stanojković, T., 2015. Biological activities of two macroalgae from Adriatic coast of Montenegro, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22, 4, 390-397.
- Kubicová, Ľ., Predanocyová, K. ve Kádeková, Z., 2019. The importance of milk and dairy products consumption as a part of rational nutrition, *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 13,1, 234-243.
- Kumar, J. I., Kumar, R. N., Bora, A., Amb, M. K. ve Chakraborty, S., 2009. An evaluation of the pigment composition of eighteen marine macroalgae collected from Okha Coast, Gulf of Kutch, India, *Our Nature*, 7, 1, 48-55.
- Kumar, Y., Tarafdar, A. ve Badgujar, P. C., 2021. Seaweed as a source of natural antioxidants: Therapeutic activity and food applications, *Journal of Food Quality*, 1-17.
- Kumaran, A. ve Karunakaran, R.J., 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*, *Food Chemistry*, 97, 109–114.
- Kunyaboorn, S., Thumanu, K., Park, J.W., Khongla, C. ve Yongsawatdigul, J., 2021. Evaluation of lipid oxidation, volatile compounds and vibrational spectroscopy of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during ice storage as related to the quality of its washed mince, *Foods*, 10, 495.
- Kurniawan, R., Nurkolis, F., Taslim, N. A., Subali, D., Surya, R., Gunawan, W. B. ve Kim, B., 2023. Carotenoids composition of green algae *Caulerpa racemosa* and their antidiabetic, anti-obesity, antioxidant, and anti-inflammatory properties, *Molecules*, 28, 7, 3267.
- Lee, J. H., 2020. Changes in flavor compounds and quality parameters of goat cream butter during extended refrigerated storage, *International Journal of Food Properties*, 23, 306-318.
- Lemanska, K., Szymusiak, H., Tyrakowska, B., Zielinski, R., Soffers, A.E. ve Rietjens, I. M., 2001. The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones, *Free Radical Biology and Medicine*, 31, 7, 869-881.
- Leong, X. F., 2021. Lipid oxidation products on inflammation-mediated hypertension and atherosclerosis: a mini review, *Frontiers Nutrition*, 8, 717-740.
- Lewington, S., Clarke, R., Qizilbash, N., Peto, R. ve Collins, R., 2003. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality, *The Lancet*, 361, 9366, 1391-1392.

- Littler, M. M. ve Littler, D. S., 2013. The nature of macroalgae and their interactions on reefs, *Research and Discoveries: The Revolution of Science through Scuba*.
- Liu, Y., Zhang, C., Cui, B., Wang, M., Fu, H. ve Wang, Y., 2021. Carotenoid-enriched oil preparation and stability analysis during storage: Influence of oils' chain length and fatty acid saturation, *Lwt*, 151, 112-163.
- López-Alarcón, C. ve Denicola, A., 2013. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays, *Analytica Chimica Acta*, 763, 1–10.
- Lopez-Velez, M., Martinez-Martinez, F. ve Del Valle-Ribes, C., 2003. The study of phenolic compounds as natural antioxidants in wine, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 233-244.
- Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M. ve Alves, V. D., 2019. Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications, *Molecules*, 24, 22, 1-25.
- Lyras, L., Cairns, N. J., Jenner, A. ve Jenner, P., 1997. An assessment of oxidative damage to proteins, lipids, and DNA in brain from patients with Alzheimer's disease, *Neurochemistry*, 68, 2061–2069.
- Ma, A. C., Chen, Z., Wang, T., Song, N., Yan, Q., Fang, Y. C. ve Liu, H. B., 2014. Isolation of the molecular species of monogalactosyldiacylglycerols from brown edible seaweed *Sargassum horneri* and their inhibitory effects on triglyceride accumulation in 3T3-L1 adipocytes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 46, 11157-11162.
- Maeda, H., Hosokawa, M., Sashima, T., Murakami-Funayama, K. ve Miyashita, K., 2009. Anti-obesity and anti-diabetic effects of fucoxanthin on diet-induced obesity conditions in a murine model, *Molecular Medicine Reports*, 2, 6, 897-902.
- Maher, J. ve Yamamoto, M., 2010. The rise of antioxidant signaling—the evolution and hormetic actions of Nrf2, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 244, 1, 4-15.
- Mamun-or-Rashid, A. N. M., Hossain, M. S., Hassan, N., Dash, B. K., Sapon, M. A. ve Sen, M. K., 2014. A review on medicinal plants with antidiabetic activity. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3, 4, 149-159.
- Manglano, P., Lagarda, M. J., Silvestre, M. D., Vidal, C., Clemente, G. ve Farré, R., 2005. Stability of the lipid fraction of milkbased infant formulas during storage, *European Journal of lipid Science and Technology*, 107, 11, 815–823.
- Mansour, A. W. ve Sindi, H. A., 2024. Effects of Ajwa date seeds on the oxidative stability of butter, *Heliyon*, 10, 2.

- Maqsood, S. ve Benjakul, S., 2010. Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince, *Food Chemical*, 119, 123-132.
- Mattea, F., Martín, Á. ve Cocero, M. J., 2009. Carotenoid processing with supercritical fluids, *Journal of Food Engineering*, 93, 3, 255-265.
- Mæhre, H. K., Malde, M. K., Eilertsen, K. E. ve Elvevoll, E. O., 2014. Characterization of protein, lipid and mineral contents in common Norwegian seaweeds and evaluation of their potential as food and feed, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 15, 3281-3290.
- McClements, D. J., 2015. *Food emulsions: Principles, practices, and techniques*, 3rd ed., CRC Press, New York, USA.
- Medeiros de Azevedo, W., Ferreira Ribeiro de Oliveira, L., Alves Alcântara, M., Tribuzy de Magalhães Cordeiro, A. M., Florentino da Silva Chaves Damasceno, K. S., Kelly de Araújo, N., ... ve Sousa Junior, F. C. D., 2020. Physicochemical characterization, fatty acid profile, antioxidant activity and antibacterial potential of cacay oil, coconut oil and cacay butter, *PLoS One*, 15, 4, e0232224.
- Meléndez-Martínez, A. J., Mandić, A. I., Bantis, F., Böhm, V., Borge, G. I. A., Brnčić, M. ve O'Brien, N., 2022. A comprehensive review on carotenoids in foods and feeds: Status quo, applications, patents, and research needs, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62, 8, 1999-2049.
- Mendis, E. ve Kim, S. K., 2011. Present and future prospects of seaweeds in developing functional foods, *Advances in Food and Nutrition Research*, 64, 1-15.
- Milovanovic, B., Djekic, I., Miocinovic, J., Djordjevic, V., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Mörlin, D. ve Tomasevic, I., 2020. What is the color of milk and dairy products and how is it measured?, *Foods*, 9, 1629.
- Minguez-Mosquera, M. I. ve Hornero-Mendez, D., 1994. Changes in carotenoid esterification during the fruit ripening of *Capsicum annum* cv. Bola, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 3, 640-644.
- Morton, L. W., Caccetta, R. A., Puddey, I. B. ve Croft, K. D., 2000. Chemistry and biological effect of dietary phenolic compounds: Relevance to cardiovascular disease, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 27,3, 152-159.
- Mudgil, D. ve Barak, S., 2020. Development of low sodium table butter via partial replacement of sodium chloride with potassium chloride, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 10, 6112-6118.

- Mussagy, C. U., Winterburn, J., Santos-Ebinuma, V. C. ve Pereira, J. F. B., 2019. Production and extraction of carotenoids produced by microorganisms, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 1095-1114.
- Mysliwa-Kurdziel, B. ve Solymosi, K., 2017. Phycobilins and phycobiliproteins used in food industry and medicine, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 17,13, 1173-1193.
- Nadeem, M., Mahud, A., Imran, M. ve Khalique, A., 2015. Enhancement of the oxidative stability of whey butter through almond (*P runus dulcis*) peel extract, *Journal of Food Processing and Preservation*, 39,6, 591-598.
- Naito, Y., Uchiyama, K., Aoi, W., Hasegawa, G., Nakamura, N., Yoshida, N. ve Yoshikawa, T., 2004. Prevention of diabetic nephropathy by treatment with astaxanthin in diabetic db/db mice, *Biofactors*, 20, 1, 49-59.
- Najgebauer, L. D., Grega, T., Sady, M. ve Domagała, J., 2009. The quality and storage stability of butter made from sour cream with addition of dried sage and rosemary, *Biotechnology in animal husbandry*, 25, 753-761.
- Nakano, T. Wiegertjes, G., 2020. Properties of carotenoids in fish fitness: a review, *Marine Drugs*, 18, 11, 568.
- Nath, P., Kaur, C., Rudra, S. G. ve Varghese, E., 2016. Enzyme-assisted extraction of carotenoid-rich extract from red capsicum (*Capsicum annuum*), *Agricultural research*, 5, 193-204.
- Nguyen, H.T., Pokorny, J. ve Korczak, J., 1999. Antioxidant activity of rosemary and sage extracts in rapeseed and sunflower oil, *Czech Journal Food Science*, 17, 121-126.
- Norsker, N. H., Barbosa, M. J., Vermuë, M. H. ve Wijffels, R. H., 2011. Microalgal production-a close look at the economics, *Biotechnology Advances*, 29, 1, 24-27.
- Norziah, M. H. ve Ching, C.Y.,2000. Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changgi*, *Food Chemistry*, 68, 69-76.
- Ohgami, K., Shiratori, K., Kotake, S., Nishida, T., Mizuki, N., Yazawa, K. ve Ohno, S., 2003. Effects of astaxanthin on lipopolysaccharide induced inflammation in vitro and in vivo. *Investingative Ophthalmology & Vision Science*, 44, 2694-2701.
- Osman, A. M., Wong, K. K. Y., Hill, S. J. ve Fernyhough, A., 2006. Isolation and the characterization of the degradation products of the mediator ABTS-derived radicals formed upon reaction with polyphenols, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 340, 2, 597-603.

- Othman, R., Amin, N. A., Sani, M. S. A., Fadzillah, N. A. ve Jamaludin, M. A., 2018. Carotenoid and chlorophyll profiles in five species of Malaysian seaweed as potential halal active pharmaceutical ingredient (API), *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 8, 4-2, 1610-1616.
- Özkan, M. ve Cemeroğlu, B., 1997. Karotenoidler: Özellikleri ve gıdalarda uygulamaları, *Gıda Teknolojisi*, 2, 11, 34-42.
- Özkan, G., Şimsek, B. ve Kuleasan, H., 2007. Antioxidant activities of *Satureja cilicica* essential oil in butter and in vitro, *Journal of Food Engineering*, 79, 4, 1391-1396.
- Pal, A., Kamthania, M. C. ve Kumar, A., 2014. Bioactive compounds and properties of seaweeds-a review, *Open Access Library Journal*, 1, 4, 1-17.
- Pangestuti, R. ve Kim, S. K., 2011. Neuroprotective effects of marine algae, *Marine Drugs*, 9, 5, 803-818.
- Panzella, L. ve Napolitano, A., 2017. Natural phenol polymers: Recent advances in food and health applications, *Antioxidants*, 6, 2, 30.
- Parada, J. ve Aguilera, J. M., 2007. Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients, *Journal of Food Science*, 72, 2, 21-32.
- Paran, E. ve Engelhard, Y., 2001. Effect of Lyc-O-Mato, standardized tomato extract on blood pressure, serum lipoproteins plasma homocysteine and oxidative stress markers in grade 1 hypertensive patients, In *Proceedings of the 16th Annual Scientific Meeting of the Society of Hypertension*, San Francisco, USA.
- Paran, E., 2006. Reducing hypertension with tomato lycopene. *Tomatoes, lycopene and human health*, Caledonian Science Press, Scotland, England, 169-182.
- Park, J. S., Chyun, J. H., Kim, Y. K., Line, L. L. ve Chew, B. P., 2010. Astaxanthin decreased oxidative stress and inflammation and enhanced immune response in humans, *Nutrition & Metabolism*, 7, 1-10.
- Parker, R. S., 1996. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. *The FASEB Journal*, 10, 5, 542-551.
- Patange, D.D., Patel, A. A., Singh, R. R. B., Patil, G. R. ve Bhosle, D. N., 2013. Storage-related changes in ghee-based low-fat spread, *Journal of the Food Science Technology*, 50,2, 346-352.
- Pawar, N., Arora, S., Bijoy, R. R. ve Wadhwa, B. K., 2012. The effects of *Asparagus racemosus* (shatavari) extract on oxidative stability of ghee, in relation to added natural and synthetic antioxidants, *International Journal Dairy Technology*, 65, 293-299.

- Pietta, P. G., 2000. Flavonoids as antioxidants, *Journal of Natural Products*, 63, 1035-1042.
- Pereira, L., 2018. Therapeutic and nutritional uses of algae. CRC Press., Coimbra, Portugal.
- Perez-Jimenez, J., Arranz, S., Tabernero, M., Diaz-Rubio, M. E., Serrano, J., Goni, I. ve Saura-Calixto, F., 2008. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results, *Food Research International*, 41, 274-285.
- Perkins, E. G., 1992. Effect of lipid oxidation on oil and food quality in deep frying. In A. J. St. Angelo (Ed.), *Lipid oxidation in food*, Washington, DC: American Chemical Society.
- Pisoschi, A. M. ve Pop, A., 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.
- Polat, S., Trif, M., Rusu, A., Šimat, V., Čagalj, M., Alak, G. ve Özogul, F., 2023. Recent advances in industrial applications of seaweeds, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63, 21, 4979-5008.
- Poojary, M. M., Barba, F. J., Aliakbarian, B., Donsì, F., Pataro, G., Dias, D. A. ve Juliano, P., 2016. Innovative alternative technologies to extract carotenoids from microalgae and seaweeds, *Marine Drugs*, 14, 11, 214.
- Pradhan, B., Bhuyan, P. P. ve Ki, J. S., 2023. Immunomodulatory, antioxidant, anticancer, and pharmacokinetic activity of Ulvan, a seaweed-derived sulfated polysaccharide: An updated comprehensive review, *Marine Drugs*, 21, 5, 300.
- Prior, R. L., Wu, X. ve Schaich, K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53, 4290–4302.
- Queirós, M. S., Grimaldi, R. ve Gigante, M. L., 2016. Addition of olein from milk fat positively affects the firmness of butter, *Food Research International*, 84, 69-75.
- Radman, S., Cikoš, A. M., Flanjak, I., Babić, S., Čižmek, L., Šubarić, D. ve Jerković, I., 2021. Less polar compounds and targeted antioxidant potential (in vitro and in vivo) of *Codium adhaerens* C. Agardh 1822, *Pharmaceutics*, 14, 9, 944.
- Raji, V., Loganathan, C., Ramesh, T. ve Thayumanavan, P., 2023. Dual antidiabetic and antihypertensive activity of fucoxanthin isolated from *Sargassum wightii* Greville in in vivo rat model, *Food Science and Human Wellness*, 12, 5, 1693-1700.
- Rebello, V., Shaikh, S. ve Desai, P. V., 2010. Toxicity of cobalt oxide nanoparticles. In 2010 International conference on environmental engineering and applications (IEEE), 195-199.

- Reitznerová, A., Šuleková, M., Nagy, J., Marcincák, S., Semjon, B., Certík, M. ve Klempová, T., 2017. Lipid peroxidation process in meat and meat products: A comparison study of malondialdehyde determination between modified 2-thiobarbituric acid spectrophotometric method and reverse-phase high-performance liquid chromatography, *Molecules*, 22, 1988.
- Ribeiro, H. S., Schuchmann, H. P., Engel, R., Walz, E. ve Briviba, K., 2010. Encapsulation of carotenoids, *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*, 211-252.
- Rios, R. V., Pessanha, M. D. F., Almeida, P. F. D., Viana, C. L. ve Lannes, S. C. S., 2014. Application of fats in some food products, *Food Science Technology*, 34, 3-15.
- Rock, C. L., 2009. Carotenoids and cancer. In *Carotenoids: Volume 5: Nutrition and Health*, 269-286. Basel: Birkhäuser Basel.
- Roleda, M. Y. ve Hurd, C. L., 2019. Seaweed nutrient physiology: application of concepts to aquaculture and bioremediation, *Phycologia*, 58, 5, 552-562.
- Roux, S., Petit, M., Baeza, E., Bastianelli, D., Tillard, E. ve Arnaud, E., 2014. Kinetics of malonaldehyde content in enriched chicken meat during isothermal cooking, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116, 2, 153–159.
- Saeed, A., Abotaleb, S., Alam, N., El Mehalawy, A. ve Gheda, S., 2020. In vitro assessment of antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of some marine macroalgae, *Egyptian Journal of Botany*, 60, 1, 81-96.
- Saini, R. K. ve Keum, Y. S., 2018. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments, *Food chemistry*, 240, 90-103.
- Saito, M., Kawai, M., Hagino, H., Yamamoto, K., Hayashida, M. ve Ikeda, T., 2002. Antihypertensive effect of Nori-peptides derived from seaweed, In *Journal of Hypertension*, 20, 160-160.
- Saldamlı, İ. ve Uygun, Ü., 1998. Gıda Katkı Maddeleri, *Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Basımevi*, 527, Ankara.
- Sereshti, H., Ahmadvand, M. ve Asgari, S., 2014. A Rapid quantification of bcarotene in fruits and vegetables by dispersive liquid–liquid microextraction coupled with UV–Vis spectrophotometry: Optimized by response surface methodology, *Food Analytical Methods*, 7, 7, 1481–1488.
- Shahidi, F., 2000. Antioxidants in foods and food antioxidants, *Die Nahrung*, 44, 158–163.
- Shahidi, F. ve Brown, J. A., 1998. Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture, *Critical Reveiws in Food Science*, 38, 1, 1-67.

- Shahidi, F., ve Wanasundara, U. N., 2002. Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils. In *Food lipids*, CRC Press.
- Shahidi, F. ve Zhong, Y., 2005. Lipid oxidation: Measurement methods. In F. Shahidi (Ed.), *Bailey's industrial oil and fat products* (6th ed., Vol. 1). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, USA.
- Shahidi, F. ve Zhong, Y., 2010. Lipid oxidation and improving the oxidative stability, *Chemical Society Reviews*, 39, 4067-4079.
- Shannon, E. ve Abu-Ghannam, N., 2019. Seaweeds as nutraceuticals for health and nutrition, *Phycologia*, 58, 5, 563-577.
- Shi, J. ve Maguer, M. L., 2000. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40, 1, 1-42.
- Sikorski, Z. Z. ve Kolakowska, A., 2010. *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*, CRC Press., New York, USA.
- Simec, M. G. ve Porter, K. M., 1980. *Autoxidation in Foods and Biological Systems*, Plenum Press, New York, USA.
- Skirrow, G., 1975. The dissolved gases-carbon dioxide. In: Riley, J. P., Skirrow, G., (eds) *Chemical oceanography*, Academic Press, New York, USA.
- Ślusarczyk, J., Adamska, E. ve Czerwik-Marcinkowska, J., 2021. Fungi and algae as sources of medicinal and other biologically active compounds: A review, *Nutrients*, 13,9, 3178.
- Smith, W. C., Lee, A. J., Crombie, I. K. ve Tunstall-Pedoe, H., 1990. Control of blood pressure in Scotland: the rule of halves, *British Medical Journal*, 300, 6730, 981-983.
- Song, J., Wei, Q., Wang, X., Li, D., Liu, C., Zhang, M. ve Meng, L., 2018. Degradation of carotenoids in dehydrated pumpkins as affected by different storage conditions, *Food Research International*, 107, 130-136.
- Sricharoen, P., Limchoowong, N., Techawongstien, S. ve Chanthai, S., 2016. A novel extraction method for β -carotene and other carotenoids in fruit juices using air-assisted, low-density solvent-based liquid-liquid microextraction and solidified floating organic droplets, *Food Chemistry*, 203, 386-393.
- Stahl, W. ve Sies, H., 2005. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1740, 2, 101-107.

- Stippl, V. M., Delgado, A. ve Becker, T. M., 2004. Development of a method for the optical in situ determination of pH value during high-pressure treatment of fluid food, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5, 3, 285-292.
- Su, J., Guo, K., Huang, M., Liu, Y., Zhang, J., Sun, L. ve Huang, L., 2019. Fucoxanthin, a marine xanthophyll isolated from *Conticribra weissflogii* ND-8: Preventive anti-inflammatory effect in a mouse model of sepsis, *Frontiers in Pharmacology*, 10, 906.
- Sunkara, A. ve Raizner, A., 2019. Supplemental vitamins and minerals for cardiovascular disease prevention and treatment, *Methodist Debaquey Cardiovascular Journal*, 15, 179-184.
- Şenel, E., 2006. Bazı üretim parametrelerinin yoğurttan üretilen yayık tereyağlarının nitelikleri üzerine etkisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Şenel, E., Atamer, M., Öztekin, F. Ş., 2011. The oxidative and lipolytic stability of yayık butter produced from different species of mammals milk (cow, sheep, goat) yoghurt, *Food Chemistry*, 127, 1, 333-339.
- Şimsek B., 2011. Studies on the storage stability of yayık butter, *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 6, 175-181.
- Tahmas Kahyaoğlu ve D., Çakmakçı, S., 2018. A comparative study on some properties and oxidation stability during storage of butter produced from different animals' milk, *Gıda*, 43, 2, 283-293.
- Tarladgis, B. G., Watts, B. M., Younathan, M. T. ve Dugan, L., Jr., 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 37, 44-48.
- Tarladgis, B. G., Pearson, A. M. Dugan, L. Jr., 1964. Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods. II. Formation of the TBA malonaldehyde complex without acid heat treatment, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 15, 602-607.
- Taub, I. A., 1984. Free radical reactions in food, *Journal of Chemical Education*, 61, 313-324.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. ve Hawkins Byrne, D., 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669-675.
- Thakaeng, P., Wongsakul, S. ve Mat Yusoff, M., 2020. Development of value-added butter through the addition of green tea (*Camellia sinensis* L.) extract, *International Food Research Journal*, 27, 3, 465-474.

- Torres, P., Santos, J. P., Chow, F. ve dos Santos, D. Y. A. C., 2019. A comprehensive review of traditional uses, bioactivity potential, and chemical diversity of the genus *Gracilaria* (Gracilariales, Rhodophyta), *Algal Research*, 37, 288-306.
- TSE 1331, 1995. Tereyağı Standardı, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- van den Berg, R., van Vliet, T., Broekmans, W. M., Cnubben, N. H., Vaes, W. H., Roza, L., Haenen, G. R., Bast, A. ve van den Berg, H., 2001. A vegetable/fruit concentrate with high antioxidant capacity has no effect on biomarkers of antioxidant status in male smokers, *The Journal of Nutrition*, 131, 1714-1722.
- Vandemoortele, A., Heynderickx, P. M., Leloup, L. ve De Meulenaer, B., 2021. Kinetic modeling of malondialdehyde reactivity in oil to simulate actual malondialdehyde formation upon lipid oxidation, *Food research international*, 140, 110063.
- Van Esch, G. J., 1986. Toxicology of tert-butylhydroquinone (TBHQ), *Food Chemical Toxicology*, 24, 10-11, 1063- 1065.
- Vanlallawmzuali, C. ve Pushpa, N., 2021. Production of natural antioxidant rich food products (bread, tofu & curd)-an alternate to synthetic food products, *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 25, 5683-5693.
- Vaughan, V. C., Hassing, M. R. ve Lewandowski, P. A., 2013. Marine polyunsaturated fatty acids and cancer therapy, *British Journal of Cancer*, 108, 3, 486-492.
- Vera, J., Castro, J., Gonzalez, A. ve Moenne, A., 2011. Seaweed polysaccharides and derived oligosaccharides stimulate defense responses and protection against pathogens in plants, *Marine Drugs*, 9, 12, 2514-2525.
- Vercellotti, J. R., St. Angelo, A. J. ve Spanier, A. M., 1992. Lipid oxidation in foods: An overview. In A. J. St. Angelo (Ed.), *Lipid oxidation in food*, Washington, DC: American Chemical Society, Los Angeles, USA.
- Viana da Silva, M., Santos, M. R. C., Alves Silva, I. R., Macedo Viana, I. B., Dos Anjos, D. A., Santos, I. A., Barbosa de Lima, N. G., Wobeto, C., Jorge, N. ve Lannes, S. C. D. S., 2022. Synthetic and natural antioxidants used in the oxidative stability of edible oils: an overview, *Food Reviews International*, 38, 349-372.
- Vidanagamage, S. A., Pathiraje, P. M. H. D. ve Perera, O. D. A. N., 2016. Effects of cinnamon (*Cinnamomum verum*) extract on functional properties of butter *Procedia Food Science*, 6, 136-142.
- Wang, H. M. D., Chen, C. C., Huynh, P. ve Chang, J. S., 2015. Exploring the potential of using algae in cosmetics, *Bioresource Technology*, 184, 355-362.

- Wang, D., Xiao, H., Lyu, X., Chen, H. ve Wei, F., 2023. Lipid oxidation in food science and nutritional health: A comprehensive review, *Oil Crop Science*, 8, 1, 35-44.
- Wasowicz, E., Gramza, A., Hes, M., Jelen, H., Korczak, J., Malecka, M., ... ve Zawirska-Wojtasiak, R., 2004. Oxidation of lipids in food, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 13.
- Webster, D., 2003. pH - principles and measurement. *Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition*. Second Edition, Academic Press, 4501-4507.
- Williamson, G., Day, A. J., Plumb, G. W. ve Couteau, D., 2000. Human metabolic pathways of dietary flavonoids and cinnamates, *Biochemical Society Transactions*, 28, 2, 16-22.
- Witschi, H. P., 1981. Enhancement of tumor formation in Mouse lung by dietary butylated hydroxytoluene, *Toxicology*, 21, 2, 95-104.
- Wehr, H. M. ve Frank, J. F. (eds), 2004. Standard method for examination of dairy products, 17th edn. American Public Health Association, Washington, DC., USA.
- Wen, X., Peng, C., Zhou, H., Lin, Z., Lin, G., Chen, S., Li, P., 2006. Nutritional composition and assessment of *Gracilaria lemaneiformis* Bory, *Journal of Integrative Plant Biology*, 48, 1047-1053.
- Wu, H., Yin, J., Zhang, J. ve Richards, M., 2017. Factors affecting lipid oxidation due to pig and turkey hemolysate, *Journal Agricultural Food Chemistry*, 65, 8011–8017.
- Xie, X., Lu, X., Wang, L., He, L. ve Wang, G., 2020. High light intensity increases the concentrations of β -carotene and zeaxanthin in marine red macroalgae, *Algal Research*, 47, 101852.
- Xu, X., Liu, A., Hu, S., Ares, I., Martínez-Larranaga, M. R., Wang, X. ve Martínez, M. A., 2021. Synthetic phenolic antioxidants: metabolism, hazards and mechanism of action, *Food Chemistry*, 353, 129488,
- Yavaşer R., 2011. Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Yu, R. X., Yu, R. T. ve Liu, Z., 2018. Inhibition of two gastric cancer cell lines induced by fucoxanthin involves downregulation of Mcl-1 and STAT3, *Human Cell*, 31, 50-63.
- Yüçetepe, A., 2022. Strategies for nanoencapsulation of algal proteins, protein hydrolysates and bioactive peptides: The effect of encapsulation techniques on bioactive properties, *Bioprospecting Algae for Nanosized Materials*, 211-227.

- Yüçetepe, A., Aydar, E. F., Okudan, E. Ş., Özçelik, B. ve Durmaz, G., 2023. Proximate analysis and fatty acid, mineral and soluble carbohydrate profiles of some brown macroalgae collected from Türkiye coasts, *Zeitschrift für Naturforschung C*, 78, 7-8, 261-269.
- Zahorui, L. P., Mazur, T. G. ve Kalinina, H. P., 2019. Flavour profile of butter with bioantioxidants. The compilation contains materials of the II All-Ukrainian workshop internet-conference “Modern problems of biosafety in Ukraine”, 52.
- Zailanie, K. ve Purnomo, H., 2011. Fucoxanthin content of five species brown seaweed from Talango District, Madura Island, *Journal of Agricultural Science and Technology A*, 1, 1103-1105.
- Zhang, Z., Zhang, P., Hamada, M., Takahashi, S., Xing, G., Liu, J. ve Suguiura, N., 2008. Potential chemoprevention effect of dietary fucoxanthin on urinary bladder cancer FJ-1 cell line, *Oncology Reports*, 20, 5, 1099-1103.
- Zhu, L. D., Li, Z. H. ve Hiltunen, E., 2016. Strategies for lipid production improvement in microalgae as a biodiesel feedstock, *BioMed Research International*, 8792548.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Neşe BALKESEN

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 2009-2014

Yüksek Lisans: Aksaray Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Anabilim Dalı,
2021-2024

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. STP Gıda San. Tic. A. Ş. (ÖZSÜT) / Yaz Stajı
2. Aksaray İl Tarım ve Orman Müdürlüğü (2020-...)

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Ulusal Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Balkesen, N., Yücestepe, A., 2024. Makroalgalar karotenoidlerin bazı biyoaktif özellikleri, ITU Journal of Food Science and Technology (Kabul).

