



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**ULVA TÜRLERİNİN AKTİF BİLEŞİKLERİNİN
ELDESİ İÇİN EKSTRAKSİYON KOŞULLARININ
OPTİMİZASYONU**

Yüksek Lisans Tezi

Gizem ÖDER

Biyomühendislik Anabilim Dalı

İzmir
2023

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**ULVA TÜRLERİNİN AKTİF BİLEŞİKLERİNİN
ELDESİ İÇİN EKSTRAKSİYON KOŞULLARININ
OPTİMİZASYONU**

Gizem ÖDER

Danışman : Prof. Dr. Oğuz BAYRAKTAR

Biyomühendislik Anabilim Dalı
Biyomühendislik Yüksek Lisans Programı

İzmir
2023

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Ulva* Türlerinin Aktif Bileşiklerinin Eldesi İçin Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

15 / 08 / 2023

İmzası

Adı-Soyadı

ÖZET**ULVA TÜRLERİNİN AKTİF BİLEŞİKLERİNİN ELDESİ İÇİN
EKSTRAKSİYON KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU**

ÖDER, Gizem

Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Oğuz Bayraktar

Ağustos 2023, 97 sayfa

Yeşil bit makroalg olan *Ulva* sp. kolay ve bol miktarlarda bulunabilme özellikleri ve değerli kimyasal içerikleri sayesinde önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Deniz marulu olarak da adlandırılan bu yosunlar yüksek miktarda polisakkarit ve protein içeriğine ek olarak birçok mineral ve biyoaktif doğal bileşikler içerir. İçeriğinde bundurdukları biyoaktif bileşikler sayesinde antimutajenik, antikoagülan, antikanser, anti-inflamatuar, antibakteriyel vb. gibi birçok biyoaktivite gösterme potansiyeline sahiptir. Alg endüstrisinin büyümesiyle alglerden ekstrakte edilen biyoaktif bileşiklerin uygulamalarına olan ihtiyaç artmaktadır. Alglerden elde edilen biyoaktif bileşikler özellikle kozmetik ürünler ve takviye edici gıdalar olmak üzere birçok fonksiyonel ürünlerin formülasyonlarında kullanılmaktadır.

Ege kıyılarında bolca bulunan ve ekosisteme zarar veren *Ulva* sp. atık olarak bertaraf edilmektedir. Atık olarak nitelendirilen *Ulva* sp.'nin katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu tez çalışmasında *Ulva* sp. içeriğinde bulunan biyoaktif doğal bileşiklerin elde edilmesinde kullanılacak ekstraksiyon koşulları optimize edilmiştir. Optimizasyon işleminde yüzey yanıt metodolojisi kullanılmış, bağımsız değişkenler olarak etanol (%), katı/sıvı oranı ve zaman (saat) seçilmiştir. Optimizasyon sonucunda verim (%), toplam polisakkarit (%), toplam protein (mg BSA/ g kuru ekstre), toplam fenol (mg GAE/ g kuru ekstre), toplam antioksidan (mg Trolox/ g kuru ekstre), antidiyabetik aktivite (alfa-glukozidaz enzimi

inhibisyon aktivitesi) ve maya hücresi glukoz alım inhibisyonu yanıtı olarak değerlendirilmiştir.

Bu tez kapsamında, *Ulva* sp.'den değerli bileşiklerin ve antidiyabetik biyoaktivite gösteren bileşiklerin elde edilmesi için ekstraksiyon koşulları optimize edilerek, yeşil sürdürülebilir bir yöntem sunulmuştur. Bu çalışma, atık olarak görülen bu makroalgin değerlendirilmesi ve çevre dostu bir yöntemle yararlı bileşiklerin elde edilmesi açısından önemli bir katkı sağlayabilir.

Anahtar sözcükler: *Ulva* sp., yüzey yanıt metodolojisi, optimizasyon, biyoaktivite, karakterizasyon



ABSTRACT**OPTIMIZATION OF EXTRACTION CONDITIONS FOR
OBTAINING ACTIVE COMPOUNDS OF *ULVA* SPECIES**

ÖDER, Gizem

MSc in Bioengineering.

Supervisor : Prof. Dr. Oğuz BAYRAKTAR

August 2023, 97 pages

Ulva sp., which is a green macroalgae, has become an important subject of research due to its ease of availability and valuable chemical. Also known as sea lettuce, these seaweeds contain high amounts of polysaccharides and proteins, along with numerous minerals and bioactive natural compounds. Thanks to the bioactive compounds they contain, such as antimutagenic, anticoagulant, anticancer, anti-inflammatory, antibacterial, and various other nutraceutical activities, they have significant potential. With the growth of the algae industry, there is an increasing need for the application of bioactive compounds extracted from algae. Bioactive compounds obtained from algae are utilized in the formulations of various functional products, especially in cosmetics and dietary supplements.

Ulva sp., which is abundant along the coasts of the Aegean Sea and can be harmful to the ecosystem, is currently being disposed of as waste. More research is required to convert waste *Ulva* sp. into high-value products. In this thesis, the extraction conditions for obtaining chemical and bioactive compounds present in *Ulva* sp. have been optimized. The optimization process utilized the response surface methodology, with ethanol (%), solid/liquid ratio, and time (hours) selected as independent variables. The optimization process evaluated yield (%), total polysaccharides (%), total protein (mg BSA/g dry extract), total phenol (mg GAE/g dry extract), total antioxidant (mg trolox/g dry extract), alpha-glucosidase enzyme inhibitory activity for antidiabetic activity determination, and yeast cell glucose uptake test.

This thesis presents a green method by optimizing the extraction conditions for obtaining valuable and antidiabetic bioactive compounds from *Ulva* sp. This study could contribute significantly to the assessment of this macroalgae, considered waste, and the extraction of beneficial compounds through an eco-friendly approach.

Keywords: *Ulva* sp., response surface methodology, optimization, bioactivity, characterization



ÖNSÖZ

Bu tez, dünya nüfusunun hızla artmasıyla birlikte kaynakların hızla azalması, atıkların yol açtığı ekolojik zararlar ve ekonomik kayıpların önlenmesi için atıkların geri kazanımının ulusal ve uluslararası alanda önemli bir konu olarak ele alındığı günümüz koşullarında yürütülen çalışmalara bir katkı sunmayı hedeflemektedir.

Deniz ekosisteminde bulunan makro alglerin ekolojik zararlarının önlenmesi ve bu alglerden elde edilebilecek yüksek katma değerli ürünlerin potansiyelinin değerlendirilmesi, ulusal olarak büyük önem taşımaktadır. Bu tez çalışması, özellikle Ege kıyılarında bulunan ve yılın bazı dönemlerinde popülasyonu artan yeşil bir makro alg olan *Ulva sp.*'ye odaklanmıştır. Atık olarak sınıflandırılan *Ulva sp.*'nin içerisinde bulunan değerli kimyasal bileşenlerin ekstraksiyonu için optimize bir yöntem geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu tezin ana hedefi, *Ulva sp.*'nin içerdiği polisakkarit, protein, fenol ve antoksidan kapasite gibi değerli bileşenlerin araştırılması ve bu alg türünün potansiyel antidiyabetik özelliklerinin ortaya çıkarılmasıdır. Yapılan çalışmaların sonuçları, *Ulva sp.*'nin değerlendirilmesi ve biyoaktivitelerinin incelenmesi konusunda önemli bilgiler sunmaktadır.

Bu tezin bilimsel araştırmaların gelişimine katkı sağlayacağı ve *Ulva sp.* gibi önemli bir deniz kaynağının sürdürülebilir kullanımı için yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.

İZMİR

15/08/2023

Gizem ÖDER

İÇİNDEKİLERSayfa

KABUL ONAY SAYFASI.....	iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ (devam).....	xviii
ŞEKİLLER DİZİNİ (devam).....	xix
ŞEKİLLER DİZİNİ (devam).....	xx
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxi
ÇİZELGELER DİZİNİ (devam).....	xxii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. <i>Ulva</i> sp. İçeriği	3
2.2. <i>Ulva</i> sp. Biyolojik Aktiviteleri	6
2.2.1. Antioksidan Aktivite	6
2.2.2. Anti-İnflamatuar Aktivite.....	8
2.2.3. Sitotoksosite ve Antikanser Aktivite.....	8

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.2.4. Antibakteriyel Aktivite	10
2.2.5. Antidiyabetik Aktivite	10
3. MATERYAL VE METOT	12
3.1. Materyal	12
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Alg Materyali	12
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	15
3.1.3. Kullanılan Kimyasallar	15
3.2. Metot	16
3.2.1. <i>Ulva sp.</i> Ekstraksiyonu	16
3.2.2. Tasarımın Uygulanması	17
3.2.3. Verimin Hesaplanması	17
3.2.4. Toplam Fenolik Bileşik Miktarının Belirlenmesi	17
3.2.5. Toplam Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi	18
3.2.6. Toplam Protein İçeriğinin Belirlenmesi	19
3.2.7. Toplam Polisakkarit İçeriğinin Belirlenmesi	20
3.2.8. Alfa-Glukozidaz Enzim İnhibisyon Testi	20
3.2.9. Maya Hücresi Glukoz Alım İnhibisyonu Testi	21
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	22
4.1. Sonuçların Değerlendirilmesi	24

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.1.1. Verim.....	24
4.1.2. Toplam Polisakkarit	32
4.1.3. Toplam Fenol Kapasitesi.....	39
4.1.4. Toplam Protein.....	47
4.1.5. Toplam Antioksidan Kapasite	55
4.1.5. Alfa-Glukozidaz Enzimi İnhibitör Etki	64
4.1.6. Maya Hücresi Glukoz Alım İnhibisyonu Testi	71
4.2. Optimizasyon.....	78
5. KAYNAKLAR DİZİNİ.....	82
TEŞEKKÜR	96
ÖZGEÇMİŞ.....	97

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2. 1 Ulvan'ın ana disakkaritlerinin yapıları. Yukarıdan aşağıya: $\beta(1,4)$ -D-GlcA- $\alpha(1,4)$ -L-Rha 3 sülfat, $\beta(1,4)$ -L-idoA- $\alpha(1,4)$ -L-Rha 3 sülfat, $\beta(1,4)$ -D-xyl- $\alpha(1,4)$ -L-Rha 3 sülfat, $\beta(1,4)$ -D-xyl 2-sülfat- $\alpha(1,4)$ -L-Rha 3 sülfat.	5
Şekil 3.1. Deniz marullarının su içerisindeki görüntüsü.	12
Şekil 3.2. Toplama esnasında çekilen görüntüler.	13
Şekil 3.3. 71 cm uzunluğundaki deniz marulu	13
Şekil 3.4. 30 cm uzunluğundaki deniz marulu.	14
Şekil 3.5. Alınan numunelerin mikroskop görüntüleri.	15
Şekil 3.6. Gallik asit standart eğrisi.	18
Şekil 3.7. Trolox standart eğrisi.	19
Şekil 3.8. BSA Standart Eğrisi.	19
Şekil 3.9. Glikoz standart eğrisi.	20
Şekil 3.10. Akarboz standart eğrisi.	21
Şekil 4.1. Verim için atığa karşı model tahminleri grafiği.	28
Şekil 4.2. Verim için tahmin edilen değerlere karşı deneysel değerler grafiği.	29
Şekil 4.3. Bağımsız değişkenlerin verim üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.	29

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.4. Verim için zaman (saat) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.	30
Şekil 4.5. Verim için etanol (%) ve zaman etkileşiminin 3D grafiği.	31
Şekil 4.6. Verim için etanol (%) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.	31
Şekil 4.7. Toplam polisakkarit için atığa karşı model tahmin edilen değerler grafiği.	35
Şekil 4.8. Toplam polisakkarit için edilen değerlere karşı deneysel değerler için tahmin grafiği.	36
Şekil 4.9. Bağımsız değişkenlerin toplam polisakkarit üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.	37
Şekil 4.10. Toplam polisakkarit için Etanol (%) ve Zaman etkileşiminin 3D grafiği.	38
Şekil 4.11. Toplam polisakkarit için Katı/Sıvı Oranı ve Zaman etkileşiminin 3D grafiği.	39
Şekil 4.12. Toplam fenol için atığa karşı model tahminleri grafiği.	43
Şekil 4.13. Toplam fenol için edilen değerlere karşı deneysel değerler için tahmin grafiği.	44
Şekil 4.14. Bağımsız değişkenlerin toplam fenol üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.	45
Şekil 4.15. Zaman (saat) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.	46

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.16. Etanol (%) ve zaman etkileşiminin 3D grafiği.....	46
Şekil 4.17. Etanol (%) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.	47
Şekil 4.18. Toplam protein içeriği (mg BSA/g Kuru Ekstre) için atığa karşı model tahminleri grafiği.	51
Şekil 4.19. Toplam protein içeriği (mg BSA/g Kuru Ekstre) için edilen değerlere karşı deneysel değerler için tahmin grafiği.....	52
Şekil 4.20. Bağımsız değişkenlerin toplam protein içeriği üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.	53
Şekil 4.21. Etanol (%) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.	54
Şekil 4.22. Zaman (saat) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.....	54
Şekil 4.23. Etanol (%) ve zaman etkileşiminin 3D grafiği.....	55
Şekil 4.24. Toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre) için atığa karşı model tahminleri grafiği.	59
Şekil 4.25. Toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre) için edilen değerlere karşı deneysel değerler için beklenen değerler grafiği.	60
Şekil 4.26. Bağımsız değişkenlerin toplam antioksidan içeriği üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.....	61
Şekil 4.27. Etanol (%) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.	62
Şekil 4.28. Etanol (%) ve zaman etkileşiminin 3D grafiği.....	63

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.29. Zaman (saat) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.	63
Şekil 4.30. Glukozidaz inhibitör aktivite (mg/ml) için atığa karşı model tahminleri grafiği.	67
Şekil 4.31. Glukozidaz inhibitör aktivite (mg/ml) için edilen değerlere karşı deneysel değerler için tahmin grafiği.	68
Şekil 4.32. Bağımsız değişkenlerin alfa glukozidaz inhibitör aktivite üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.	69
Şekil 4.33. Etanol (%) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.	70
Şekil 4.34. Etanol (%) ve zaman etkileşiminin 3D grafiği.	70
Şekil 4.35. Zaman (saat) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.	71
Şekil 4.36. Maya hücresi glikoz alım için atığa karşı model tahminleri grafiği.	74
Şekil 4.37. Maya hücresi glikoz alım testi için beklenen değerlere karşı deneysel değerler için tahmin grafiği.	75
Şekil 4.38. Bağımsız değişkenlerin Maya hücresi glikoz alım testi üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.	76
Şekil 4.39. Etanol (%) ve zaman etkileşiminin 3D grafiği.	77
Şekil 4.40. Zaman (saat) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.	77
Şekil 4.41. Etanol (%) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.	78

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2. 1. <i>Ulva sp.</i> 'nin farklı biyoaktiviteleri	6
Çizelge 4. 1. Bağımsız ekstraksiyon değişkenlerinin deneysel aralıkları ve seviyeleri.....	22
Çizelge 4.2. Bağımsız ekstraksiyon değişkenlerinin deneysel aralıkları ve seviyelerinin kodlanmış değerleri.....	22
Çizelge 4. 3. Bağımsız ekstraksiyon değişkenleri için oluşturulan deney tasarımı	23
Çizelge 4. 4. Yanıt tablosu	23
Çizelge 4.5. Verim için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi.....	25
Çizelge 4.6. Verim için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan değerler	26
Çizelge 4.7. Toplam polisakkarit (%) için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi.....	33
Çizelge 4.8. <i>Toplam polisakkarit için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan değerler</i>	34
Çizelge 4.9. Toplam fenol kapasitesi için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi.....	41
Çizelge 4.10. Toplam fenol için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan değerler	42

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.11. Toplam protein (mg BSA/g Kuru Ekstre) için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi	49
Çizelge 4.12. Toplam protein (mg BSA/g kuru ekstre) için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan değerler.....	50
Çizelge 4.13. Toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre) için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi	57
Çizelge 4. 14. Toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre) için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler	58
Çizelge 4.15. Alfa-glukozidaz inhibitör aktivite için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi	65
Çizelge 4.16. Alfa-glukozidaz inhibitör aktivite için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler.....	66
Çizelge 4.17. Maya hücresi glukoz alım testi için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi	72
Çizelge 4.18. Maya hücresi glukoz alım testi için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan değerler	73
Çizelge 4.19. Faktörler ve yanıt değerleri için seçilen koşullar ve maksimum-minimum değerleri.....	79
Çizelge 4.20. Seçilen çözüm önerisi için faktör değerleri.	79
Çizelge 4.21. Programdan alınan "Confirmation" tablosu	81

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
MAA	Mikosporin Benzeri Amino Asitler
<i>UV</i>	Işık
<i>DW</i>	% kuru ağırlık
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
QE	Kuersetin Eşdeğeri
SOD	Süperoksit Dismutaz
CAT	Katalaz
PG	Prostaglandin
LT5	Lökotrienler
PAF	Trombosit Aktive Edici Faktör
JEV	Japon Ensefalit Virüsü
HepG2	Hepatoselüler Karsinom
MCF7	Insan Meme Kanseri
HeLa	Servikal Kanser
Caco-2	Insan Kolon Kanseri
A549	Insan Akciğer Karsinomu
Fem-x	Malign Melanom
K562	Kronik Miyelojenöz Lösemi

HEp-2	Laringeal Epidermoid Karsinom
NCI-H292	Insan Akciğer Mukoepidermoid Karsinomu
DENA	Dietilnitrozamin
DMBA	7,12-dimetilbenz[a]antrasen
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
TEAC	Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi
BCA	Bicinchoninic Asit
BSA	Bovine Serum Albumin
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNS	3,5-Dinitrosalicylic acid
YYM	Yüzey Yanıt Metodolojisi
BBD	Box Behnken Design
R ²	Regresyon Katsayısı
Adj-R ²	Düzeltilmiş Regresyon Katsayısı
PRESS	Tahminlenmiş Kalıntı Hata Kareler Toplamı
Pre-R ²	Tahminlenmiş Çoklu Belirleme Katsayısı
df	Serbestlik derecesi
C.V.	Varyasyon Katsayısı
GSH	Glutasyon Peroksidaz

1. GİRİŞ

Denizler, içerisinde yaşayan organizmaların çeşitliliği sayesinde tıp, kozmetik ve gıda gibi alanlarda kullanılabilecek önemli malzemeler açısından oldukça zengindir. Deniz yosunu olarak da bilinen algler, denizlerin en önemli bileşenlerindedir. Alglerin, ticari uygulamaları günden güne artmaktadır. Halihazırda Asya'da gıda maddesi olarak yaygın kullanıma sahip deniz yosunu biyokütlesi, batı diyetlerine giderek daha fazla dahil edilmekte ve çeşitli gıda ve farmasötik uygulamalarda kullanılmaktadır. Besleyici ve tedavi edici nitelikleri, sürdürülebilir olmaları ve doğal birer besin kaynağı olmaları nedeniyle alglerin gastronomi alanlarına dahil edilmesine yönelik ilgi son yıllarda artmıştır.

Bir deniz yosunu türü olan ve deniz marulu olarak da bilinen *Ulva sp.* birçok faydalı bileşik içerir. Deniz yosunları ayrıca kartenoidler ve polifenoller gibi yüksek antioksidan özelliklere sahip bileşiklere sahiptir. Bu bileşikler antimutajenik, antikoagulan, antikanser, anti-inflamatuar, antibakteriyel vb. gibi sayısız nutrasötik aktivite potansiyeline sahiptir. Yeşil alglerden elde edilen bileşiklerin verimi ve spesifik bileşimi toplandıkları mevsim (Audrey Robic vd., 2009) ve kullanılan ekstraksiyon yöntemi (A Robic vd., 2008) gibi çevresel faktörlere bağlıdır.

Alg endüstrisinin büyümesi ve alg biyorafinerisinin gelişmesiyle, alglerden ekstrakte edilen biyoaktif bileşiklerin uygulamalarına olan ihtiyaç artmaktadır. Son zamanlarda Ege bölgesinde ciddi bir alg patlaması meydana gelmiştir. Bu tür alg patlamaları, denizdeki diğer organizmaların besin bulmasını zorlaştırarak göç etmelerine, kaldıkları takdirde ölmelerine sebep olabilir. Ekosisteme verdikleri büyük zararların yanısıra görüntü ve koku kirliliği de oluşturmaktadır. Denizin üzerinde kalın, çamurumsu, yeşil bir tabaka oluşturarak rekreasyonu, işletmeleri ve mülk değerlerini olumsuz etkileyebilirler. Bu tarz zararlı etkilerinden ötürü toplanıp imha edilmektedirler. Bir atık olarak görülen ve sayısız faydası ve kullanım alanı olan bu alg türünün katma değeri yüksek bileşiklere dönüştürülmesi konusunda daha fazla çalışma gereklidir.

2. GENEL BİLGİLER

Makroalgler, fotosentez yapabilen ve az ya da çok farklılaşmış dokulara sahip farklı organizma türlerini kapsayan çeşitli ve polifiletik bir gruptur. Üç ana taksonomik grubu bulunur. Bunlar, *Chlorophyta* ("yeşil algler" olarak bilinir), *Rhodophyta* (kırmızı algler) ve *Ochrophyta*'dır (özellikle *Phaeophyceae* sınıfı-kahverengi algler). Deniz makroalgleri diyet lifi, proteinler, vitaminler ve mineraller açısından zengin kaynaklardır. Ayrıca, bazıları karasal bitkilerle karşılaştırıldığında benzersiz olan proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve karotenoidler gibi değerli biyolojik aktivitelere sahip çok çeşitli ikincil metabolitlere sahiptir (Milchakova, 2011). Denizdeki yaşam formlarının, çeşitli amino asitler, peptitler, proteinler, yağ asitleri, steroller, vitaminler, oligosakkaritler ve mineraller de dahil olmak üzere değerli doğal biyoaktif bileşiklerin kaynağı olan küresel bir biyolojik çeşitlilik oluşturduğu bilinmektedir. Her yıl deniz organizmalarından binlerce yeni bileşik izole edilmekte ve kanser, iltihaplı hastalıklar ve viral hastalıklar dahil olmak üzere insan hastalıklarını teşhis veya tedavi etmek için potansiyel ilaç molekülleri keşfedilmektedir (Pal ve Nayak, 2021). Bu nedenle, makroalglerin insan sağlığı açısından çeşitli yararları olan biyoaktif bileşiklerin kaynağı olarak potansiyel uygulaması giderek artan bir ilgi görmektedir.

Makroalglerin özütleri çeşitli farmakolojik kullanımlara sahip olabilir. Şimdiye kadar, dünya çapında yaklaşık 83 türün farmakolojik olarak etkili olduğu kanıtlanmıştır (49 kırmızı alg, 20 kahverengi alg ve 14 yeşil alg). Uygulamaları son derece çeşitlidir; bazıları antiviral (soğuk algınlığı, grip vb. karşı), bazıları antibakteriyel (örneğin, tüberküloza karşı) ve bazıları da antifungal ajanlar olarak işlev görür. Algal polifenollerin, özellikle de kahverengi alglerde bulunan klorotanninlerin (polifloroglukinoller) olağanüstü antioksidan özelliklere sahip olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca yine alglerde bulunan sülfatlı polisakkaritler, astaksantin ve fukoksantin gibi karotenoidler, alg proteinlerinin yapısında bulunan peptitler ve mikosporin benzeri amino asitler (MAA'lar) farklı oranlarda antioksidan potansiyeli olduğunu göstermektedir (Plaza vd., 2008).

Ulva cinsinden (*Phylum Chlorophyta, Class Ulvophyceae, Order Ulvales, Family Ulvaceae*) yeşil makroalg türleri, dünyanın dört bir yanındaki kıyı topluluklarında her yerde bulunan en bol deniz yosunu türleri arasındadır (Wichard vd., 2015). *Ulva*, tübüler monostromatik (tek hücre tabakası) veya yapraksı distromatik (iki hücre tabakası) olmak üzere iki ana morfoloji sunan çeşitli türlerden oluşur (Rybak ve Gąbka, 2018). *U. compressa* gibi bazı türler her iki morfotipi de sunmaktadır (Steinhagen vd., 2019). Dolayısıyla, bu morfolojik çeşitlilik yalnızca genetik değişkenlikle değil, aynı zamanda çevresel koşullara ve ilişkili mikrobiyomdaki varyasyonlara yanıt olarak önemli morfolojik esneklikle de açıklanmaktadır (Alsufyani vd., 2020). Bu nedenle, *Ulva* türlerini doğru bir şekilde tanımlamak için morfolojik karakterlere dayalı yöntemler yeterli olmayabilir. Genetik bilgiye dayalı yöntemler gereklidir. Şu anda, tanımlanan 400 *Ulva* türü arasında sadece yaklaşık 40 tür genetik bilgi kullanılarak taksonomik olarak tanınmıştır (Fort vd., 2022).

2.1. *Ulva* sp. İçeriği

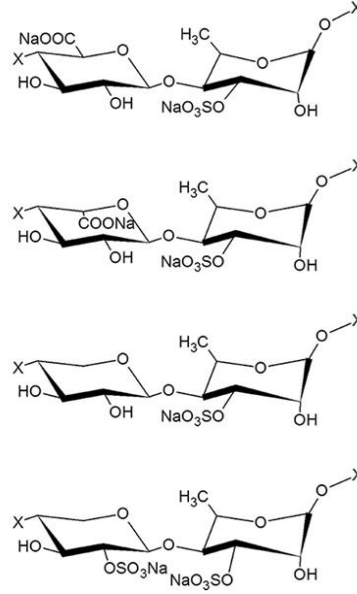
Ulva cinsi yeşil deniz yosunları, kolay erişilebilirlikleri ve bolluklarının yanı sıra değerli kimyasal içerikleri nedeniyle yoğun bir şekilde incelenmiştir. Bu da onları ekonomik açıdan cazip bir dizi endüstriyel uygulama için potansiyel ham madde haline getirmektedir (Trivedi vd., 2016). *Ulva* sp. biyokütlesi proteinler, karbonhidratlar, polisakkaritler, mineraller ve lipitler gibi yüksek düzeyde besin öğeleri içerir (Holdt ve Kraan, 2011; Rasyid, 2017). Ancak tüm bu bileşiklerin miktarı türler ve popülasyonlar arasındaki genetik farklılıkların yanı sıra sıcaklık, tuzluluk, ışık (UV) ve suyun besin bileşimi gibi çevresel koşullara göre değişmektedir.

Ulva türlerinde protein içeriği kuru ağırlığın (DW) %9 ila %29'u arasında değişmektedir (Fleurence vd., 2018). En yüksek protein içeriği, %29 (DW), Birleşik Krallık'taki Kuzey Yorkshire'dan toplanan *Ulva lactuca*'da kaydedilmiştir (Marshall vd., 2007) ve en düşük protein içeriği yaz aylarında Tunus'ta toplanan aynı *Ulva* türünde rapor edilmiştir (Yaich vd., 2011). Bu farklılık kara bitkilerine benzer şekilde protein içeriğinin düzenlenmesinde sıcaklığın bir rolü olduğunu

göstermektedir (Pyl vd., 2012; Stitt ve Hurry, 2002). Aspartik ve glutamik asitler en bol bulunan amino asitlerdir ve birlikte ele alındığında *U. rigida* ve *U. rotundata*'daki toplam amino asitlerin sırasıyla %26 ve %32'sini temsil edebilir (Shuuluka vd., 2013). Hayvan ve insan beslenmesi için gerekli olan diğer temel amino asitler de *Ulva*'da bol miktarda bulunur. Valin, lösin, lizin ve treonin birlikte *U. lactuca*'daki toplam amino asit içeriğinin %42'sini temsil eder.

Ulva, türlere ve büyüme koşullarına bağlı olarak %14 ila %52 DW arasında nispeten yüksek kül içeriği ile önemli bir mineral kaynağı olarak da kabul edilir (Peña-Rodríguez vd., 2011; Van den Burg vd., 2013). Potasyum, magnezyum, sodyum ve kalsiyum *Ulva* biyokütlesindeki başlıca minerallerdir (Abirami ve Kowsalya, 2011; Khairy ve El-Sheikh, 2015).

Ulva sp. biyokütlesi, düşük lipit içeriği (%1 ila 12 DW) ve yüksek karbonhidrat içeriği (%41 ila 50 DW) nedeniyle enerji bakımından nispeten düşüktür (Echave vd., 2021; Shanmugam ve Palpandi, 2008). Karbonhidratlar üç ana gruba ayrılır: suda çözünen ulvanlar (%8-29 DW) (Morelli vd., 2017; Audrey Robic vd., 2009), yapısal suda çözünmeyen selüloz (%9 DW) (Prabhu vd., 2020) ve yapısal olmayan suda çözünmeyen nişasta (%10 DW) (Fort vd., 2019). Ulvanlar esas olarak sülfatlanmış ramnoz, üronik asitler (glukuronik asit ve iduronik asit) ve ksilozdan oluşur ve hücre duvarında bulunan başlıca polisakkaritlerdir (Şekil 2. 1) (Lahaye ve Robic, 2007). Yüksek karbonhidrat içeriği ve değerli polisakkaritlerin varlığı, *Ulva* türlerini farmasötik ürünler ve biyoyakıt üretimi için ilgi çekici kılmaktadır.



Şekil 2. 1 Ulvan'ın ana disakkaritlerinin yapıları. Yukarıdan aşağıya: $\beta(1,4)$ -D-GlcA- $\alpha(1,4)$ -L-Rha 3 sülfat, $\beta(1,4)$ -L-idoA- $\alpha(1,4)$ -L-Rha 3 sülfat, $\beta(1,4)$ -D-xyl- $\alpha(1,4)$ -L-Rha 3 sülfat, $\beta(1,4)$ -D-xyl 2-sülfat- $\alpha(1,4)$ -L-Rha 3 sülfat.

Mineraller, proteinler ve lifler (Ulvanlar ve selüloz) *Ulva* biyokütlesini gıda ve yem endüstrileri için uygun hale getirir. Asya ülkelerinde *Ulva* popüler olarak gıda maddesi olarak tüketilmektedir. Ayrıca gıda takviyelerinde ekstrakt olarak kullanılabilir (Kasimalla vd., 2015). Ancak, *Ulva* türlerinin insanlar için gıda olarak kullanılmasına gıda güvenliği düzenlemeleri açısından dikkat gösterilmelidir. *Ulva sp.* faydalı bileşiklerin doğal akümülatörleri olabilirken, ağır metaller (örneğin civa, arsenik, kurşun ve kadmiyum) gibi toksik elementleri de biriktirebilirler (Almela vd., 2002; Haritonidis ve Malea, 1999; Villares vd., 2002). *U. lactuca* üzerine yapılan bir çalışmada 0,017 ppm civa, 2,008 ppm arsenik, 0,045 ppm kadmiyum ve 0,452 ppm kurşun içerdiği bildirilmiştir (Abirami ve Kowsalya, 2011).

Ulva türlerinin flavonoid ve fenolik bileşikler içerdiği de bilinmektedir. *U. lactuca*'nın su ile ekstraksiyonu sonucunda çıkan özütü üzerine yapılan bir çalışmada toplam fenol içeriği 27,29 mg GAE/g ve toplam flavonoid içeriği 10,22 mg QE/g olarak bulunmuştur (Benítez-García vd., 2020). Ayrıca *Ulva sp.*'nin diğer içerikleri gibi fenolik bileşiklerinin de mevsimsel olarak farklılık gösterdiği, en yüksek fenolik bileşik içeriğinin yaz aylarında bulunduğu bildirilmiştir (Khairy ve El-Sheikh, 2015).

2.2. *Ulva sp.* Biyolojik Aktiviteleri

Yeşil deniz yosunu insanların günlük besin ihtiyaçlarını karşılama potansiyeline sahiptir. Ayrıca sağlığa faydalı biyolojik aktivitelere sahiptir ve nutrasötik ve farmasötik endüstrilerinde kullanılabilir (Çizelge 2. 1).

Çizelge 2. 1. *Ulva sp.*'nin farklı biyoaktiviteleri

Biyoaktivite	Kaynak
Antioksidan	(S. Hassan vd., 2011) (Khairy ve El-Sheikh, 2015) (Meenakshi vd., 2009) (Alagan vd., 2017)(Leelavathi vd., 2015)
Antikoagulan	(Mao vd., 2006)
Antibakteriyel	(Alghazeer vd., 2013)
Anti-enflamatuvar	(Awad, 2000; Margret vd., 2009)
Anti-tümör	(Lee vd., 2004)
Anti-hiperlipidemik	(Pengzhan vd., 2003)
Hipokolestrolemik	(S. Hassan vd., 2011)
Hepatoprotektif	(Devaki vd., 2009; Sathivel vd., 2008)
Sitotoksik	(Alves vd., 2013)
Antifungal	(Tüney vd., 2006)
Antiviral	(Chiu vd., 2012)
Anti-parazitik	(Spavieri vd., 2010)
Böcek öldürücü	(Abbassy, 2014)
Bitki Büyümesi	(S. M. Hassan ve Ghareib, 2009)

2.2.1. Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar, algler dahil olmak üzere hayvanlardan ve bitkilerden elde edilebilir. *Ulva sp.* içeriğinde bulunan antioksidanların lipid peroksidasyonunu inhibe ederek ve antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak radikal karşıtı bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Çalışmalar, ulvan'ın güçlü antioksidan aktivitesinin, polimerik omurga boyunca sülfat gruplarının ikame derecesi ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (Massironi vd., 2019).

2019 ve 2020'de *Ulva sp*'den elde edilen çeşitli ulvan kaynaklarının antioksidan etkiye sahip olduğu bulunmuştur; bunlar arasında *U. lactuca*, *U. australis*, *U. rigida* ve *U. ohnoi* bulunmaktadır (Fernandes vd., 2019; Prabhu vd., 2020; Trentin vd., 2020). *Ulva* türlerinden elde edilen ulvan polisakkaritlerinin sülfat içeriğinin ve moleküler ağırlığının antioksidan etkilerinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Guedes vd., 2013; Kellogg ve Lila, 2013; Kosanić vd., 2015).

Ulvan'ın antioksidan mekanizması sülfat ve düşük molekül ağırlıklı polisakkaritlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Abou El Azm vd., 2019; Hussein vd., 2015; Tariq vd., 2015). *Ulva* içeriğinde bulunan polisakkaritler ve oligosakkaritlerin bileşenleri glutatyon peroksidaz (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), telomeraz ve toplam antioksidanları artırabilir ve malondialdehit seviyesini azaltabilir (Li vd., 2018; Wathoni vd., 2019). *Ulva* türlerinde antioksidan aktiviteye sahip diğer bileşenler pigmentler (klorofil, karotenoidler) ve uçucu yağlardır.

Ekstraksiyon prosedürü de ulvanın antioksidan etkisini değiştirebilir. Bu durum antioksidan aktiviteye sahip bileşenleri ekstrakte etmek için kullanılan çözücünün polaritesi ile ilgilidir. Metanol ekstraktından üretilen inhibisyon yüzdesi, su ekstraktının inhibisyon yüzdesinden daha yüksektir (Al-Amoudi vd., 2009). Ayrıca, enzimatik ekstraksiyon, asit ekstraksiyonuna kıyasla daha yüksek inhibisyon yüzdesi sağlar (Yaich vd., 2017).

İn vitro antioksidan testlerinin yanı sıra *in vivo* çalışmalar da yapılmıştır. Bu çalışmalarda aşırı strese maruz kalan farelere Ulvan uygulanması anormal lipid metabolizmasını önlemiş, karaciğer antioksidan savunma sistemlerini modüle etmiş ve lipid peroksidasyonunu azaltmıştır (Nunes vd., 2017; Wang vd., 2013).

2.2.2. Anti-İnflamatuar Aktivite

Enflamasyon, organizma boyunca göç eden dokulardan ve hücrelerden kimyasalların salınmasından kaynaklanır. Enflamasyon ile ilişkili reseptörler prostaglandin (PG), lökotrienler (LT5), histamin, bradikinin, trombosit aktive edici faktör (PAF) ve interlökin-1'dir (Vane ve Botting, 1987). Ulvan, D-Gal (500 mg/kg) gibi radikallerin enjekte edildiği fareler (Liu vd., 2019; Sathivel vd., 2008) ve topikal enflamasyonun fare kulak ödemi modeli (Awad, 2000) dahil olmak üzere çeşitli hayvan türlerinde *in vitro* olarak test edilen anti-enflamatuar aktiviteye sahiptir.

Ulvan anti-enflamatuar mekanizması karaciğerdeki granülom ile ilgilidir. Sülfatlı polisakkaritlerin 24 hafta boyunca uygulanması karaciğer enflamasyonunu ve nekrozunu önemli ölçüde azaltır ve apoptozu indükler. Sülfatlı polisakkaritler hafif sinüzoid dilatasyonu yoluyla karaciğer lobüllerinin hacmini artırır. Biyolojik etkiler yanıtı değiştirir, splenositler ve makrofajlar yoluyla bağışıklık sistemini uyarır ve kanser hücrelerinin büyümesini baskılayabilen anti-enflamatuar sitokinlerin salınımını indükler (Hussein vd., 2015). Ayrıca Ulvan, enflamasyonun kronik semptomlarını azaltma potansiyeline sahiptir (Zhu vd., 2017). Yapılan bir çalışmada sülfatlanmış polisakkaritlerin, çeşitli Japon ensefalit virüsü (JEV) suşlarıyla enfekte olmuş birincil glial hücrelerde pro-enflamatuar sitokin üretimini etkili bir şekilde azalttığı bildirilmiştir (Chiu vd., 2012).

2.2.3. Sitotoksisite ve Antikanser Aktivite

Ekonomik ve çevresel faydaları olan yeni biyomalzemelere ihtiyaç vardır. Bu bağlamda, stabilite ve etkinlik belirlenirken toksisite belirlenmeli ve dikkate alınmalıdır. Ulvan'ın bir takviye, nutrasötik ve terapötik ajan olarak kullanılabilmesi göz önüne alındığında, potansiyel sitotoksisiteyi ve kullanılacak terapötik doz aralığını belirlemek için test edilmelidir. Sitotoksisite testleri hücrelerle *in vitro* olarak veya deney hayvanları kullanılarak *in vivo* olarak gerçekleştirilir. Son yıllarda, ulvan'ın antikanser etkisi *U. lactuca*, *U. australis*, *U.*

rigida ve *U. ohnoi*'de gösterilmiştir (Al-Malki, 2020; Sanjivkumar vd., 2020; Trentin vd., 2020).

HepG2 (hepatoselüler karsinom), MCF7 (insan meme kanseri) ve HeLa (servikal kanser) hücrelerinden elde edilen sonuçlar, artan ulvan konsantrasyonuyla doğru orantılı olarak hücre canlılığının azaldığını göstermiştir (Thanh vd., 2016). Ulvan özütleri, test edilen en yüksek konsantrasyonda bile sitotoksositeye (yarı maksimal inhibitör konsantrasyon [IC50] 90 mg/mL'den az) neden olmadığı için memeli L6 hücreleri için kontrol olarak güvenli bulunmuştur. Ulvan, 3T3 hücrelerinde 10.000 mg/mL'de toksisite göstermemiştir (Botta vd., 2014).

Kanser, hücrelerin ve vücut dokularının anormal büyümesi nedeniyle ortaya çıkar. Kanser, genellikle DNA'da oksidatif hasara neden olan çeşitli endojen ve eksojen faktörler tarafından başlatılır; bu süreç, hücre çoğalması, farklılaşması ve apoptoz yollarının normal düzenlemesini bozan mutasyonlar üreten bir süreçtir. Çeşitli çalışmalar, ulvan'ı toksisite ve hücre canlılığı açısından araştırarak, özellikle anti-meme kanseri (Abd-Ellatef vd., 2017; Al-Malki, 2020), anti-kolon (Arsianti vd., 2016; González-Ballesteros vd., 2019) ve anti-servikal kanser aktivitesi (Thanh vd., 2016) için antikanser aktivitesini test etmiştir.

In vitro olarak ulvan, HepG2 (Al-Malki, 2020; Fractionation vd., 2019) Caco-2 (insan kolon kanseri) (Arsianti vd., 2016), LS174 (insan kolon kanseri), A549 (insan akciğer karsinomu), Fem-x (malign melanom) K562 (kronik miyelojenöz lösemi) (Kosanić vd., 2015), HEp-2 (laringeal epidermoid karsinom), NCI-H292 (insan akciğer mukoepidermoid karsinomu) (Guedes vd., 2013) ve HeLa (servikal kanser) (Thanh vd., 2016) gibi çeşitli kanser hücre hatları üzerinde test edilmiştir. Ayrıca dietilnitrozamin (DENA, 200 mg/kg, intraperitoneal) (Hussein vd., 2015) ve 7,12-dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) (Abd-Ellatef vd., 2017) gibi karsinojenler enjekte edilen sıçanlarda da test edilmiştir.

2.2.4. Antibakteriyel Aktivite

Zararlı bakterilerin büyümesini kontrol etmek için antibakteriyel bileşikler kullanılabilir. Bu bileşiklerin kullanımı, hastalık ve enfeksiyonun yayılmasını önlemeyi, enfekte olmuş konağı ortadan kaldırmayı ve bir materyalin bakteriler tarafından çürümesini ve tahrip edilmesini önlemeyi amaçlamaktadır. Farmasötik ilaçlara karşı bakteriyel direnç artmaktadır; bu nedenle doğal kaynaklardan yeni ilaçların taranmasına acil ihtiyaç vardır. Deniz ekosisteminden elde edilen deniz yosunları, biyoaktif bileşiklerin önemli bir kaynağıdır ve çeşitli farmasötik ilaçların için potansiyel taşımaktadır (Mahady, 2005; Valko vd., 2004).

Birçok çalışma ulvan'ın antibakteriyel potansiyelini incelemiş ve yüksek, orta ve zayıf potansiyel dahil olmak üzere bir dizi sonuç elde edilmiştir. Ulvan, *Clostridium perfringes*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* gibi çeşitli bakterilere karşı test edilmiştir (Alghazeer vd., 2013; Fouda vd., 2022; Radhika ve Mohaideen, 2015; Ravikumar vd., 2016). Ekstraksiyon prosedürü, kullanılan çözücü ve *Ulva sp*'nin fizyolojik koşulları gibi çeşitli faktörler antibakteriyel aktiviteyi etkilemektedir. Antibakteriyel etki hasat döneminden de etkilenir.

2.2.5. Antidiyabetik Aktivite

Metabolik bir hastalık olan diabetes mellitus, küresel olarak en büyük üçüncü ölüm nedenidir. Etkili bir doğal antidiyabetik tedavi arayışı, diyabetle ve mevcut antidiyabetik ilaçların olumsuz yan etkilerinden kaynaklanan sonuçlarla mücadele etmek için çok önemlidir. Diyabetin kontrolü için alglerin olası avantajlarını bulmak, doğal ilaçların oluşturulması için çok önemlidir. Alglerin metabolik süreçlerinin birçoğu, alglere çeşitli kimyasal ve biyolojik özellikler kazandıran biyoaktif ikincil metabolitler üretir. Çok sayıda çalışma, çoğunlukla α -amilaz ve α -glukozidaz gibi karbonhidrat hidrolize edici enzim aktivitesini bloke ederek alglerin antioksidan ve antidiyabetik faydalarını göstermiştir. Ayrıca, alglerden elde edilen biyoaktif bileşenler *in vivo* diyabetik semptomları azaltabilir.

Belhadj ve arkadaşları bir çalışmada *U. lactuca*'dan elde edilen polisakkaritlerin diyabet üzerindeki etkisini araştırmıştır. Çalışma için Wistar sıçanlar kullanılmıştır. Diyabet oluşturmak için taze hazırlanmış alloksan çözeltisi enjekte edilmiştir. Bir ayın sonunda sıçanların kanları ve dokuları toplanmıştır. Daha sonra sıçanların alfa amilaz, lipaz ve maltaz aktiviteleri, kan glukoz seviyeleri, nişasta, glikoz ve glukoz toleransları ölçülmüştür. *Ulva* ekstraktının kan glukoz seviyesini düşürdüğünü göstermiştir. Ayrıca yapılan enzim inhibitör aktivite testleri bu sonuçları ve birbirini doğrulamıştır. Sonuç olarak, *U. lactuca* polisakkaritlerinin diyabete karşı kesinlikle etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Belhadj vd., 2021). Başka bir grup, albümin nanopartiküllerine yüklenen *Ulva* ekstraktının anti-diyabetik etkisini araştırmıştır. Sıçanlar alloksan ile diyabetik hale geldikten 6 hafta sonra kan örnekleri toplanmış ve analiz edilmiştir. Nanopartiküllere yüklenen *Ulva* ekstraktlarının anti-enflamatuvar ve hipoglisemik etkileri bildirilmiştir (L. Al-Malki vd., 2019).

Labbaci ve ark. yaptıkları bir çalışmada *Ulva*'nın su-etanol ekstraktlarının diyabetik farelerin insülin direncine etkisini araştırmıştır. Kan serumu, karaciğer ve fekal lipid seviyeleri ölçülmüştür. Ayrıca kan glukoz seviyeleri ve kolesterol konsantrasyonları incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda *Ulva* özütünün insülin direncini azalttığı, kolesterol seviyelerinde düşüş sağladığı belirtilmiştir. Bu sebeple hem anti-diyabetik hem de anti-aterosklerotik etkileri vurgulanmıştır (Labbaci ve Boukott, 2020).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Alg Materyali

Bu tez çalışması kapsamında İzmir Körfezi'nden 1 Ekim 2022 Cumartesi günü Karşıyaka/İzmir sahilinden tekne ile açılarak $38^{\circ}27'48.0''N$ $27^{\circ}04'03.4''E$ koordinatlarından deniz marulu toplanmıştır. Toplanan deniz marullar hızlıca laboratuvara getirilerek önce çeşme suyuyla sonra saf su ile yıkanmıştır. Ardından filtre kağıtlarına serilerek kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Toplanan kıyının görüntüleri Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Deniz marullarının su içerisindeki görüntüsü.

Ağlarla toplanan *Ulva*'ların görüntüleri Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Toplama esnasında çekilen görüntüler.

Marullar kovaların içerisinde ezilip yırtıldığından dolayı sağlam iki marulun boyutları ölçülmüştür (Şekil 3.3 ve Şekil 3.4). Tek parça halinde bulunabilen en uzun marul 71 cm uzunluğudadır. En kısa marul ise 30 cm civarlarındadır. Diğer marullar da bu aralıktadır.



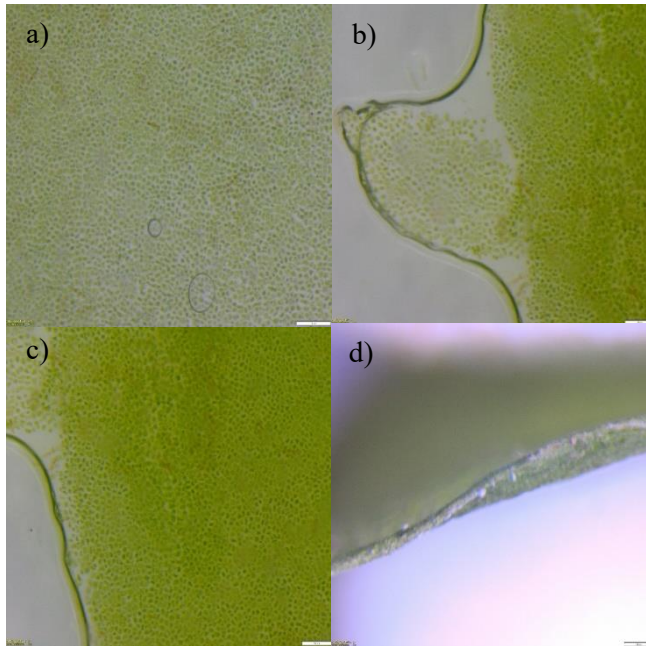
Şekil 3.3. 71 cm uzunluğundaki deniz marulu



Şekil 3.4.30 cm uzunluğundaki deniz marulu.

Toplanan *Ulva* örneklerinden rastgele numune alınarak 11,5x mikroskopta incelenmiştir (

Şekil 3.5). İnceleme sonucunda tüm örneklerin morfolojik benzerlikleri olduğu görülmüştür. Ancak tür tayini için genetik testlere ihtiyaç vardır.



Şekil 3.5. Alınan numunelerin 11,5x'lik büyütme altındaki yatay (a, b ve c) ve dikey kesitlerinin (d) mikroskop görüntüleri.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Shimadzu marka ATX22U hassas terazi çalışmada kullanılan kimyasalların tartımında kullanılmıştır. Tüm deneyler süresince kimyasalların ve örneklerin hazırlanmasında Lab Companion marka MS-52M model ısıtmalı manyetik karıştırıcı, Eutech Instruments marka pH 700 model pH-metre, İldam marka saf su cihazı, XH-C Model vorteks kullanılmıştır.

N-Biotek marka NB-T205LF model soğutmalı karıştırılmalı inkübatör ekstraksiyonların sabit koşullarda tutularak çalkalanması için kullanılmıştır. LabTech marka vakumlu döner buharlaştırıcı ekstraktlardan etanolün uzaklaştırılması için kullanılmıştır. Telstar Lyoquest marka liyofilizatör ekstraktların dondurularak kurutulması için kullanılmıştır. Thermo Scientific marka Genesys 10S model spektrofometre içerik analizleri ve biyoaktivite testleri için kullanılmıştır.

Centurion Scientific marka K2015 model santrifüj cihazı örneklerin katı kısımlarının çöktürülerek ayrıştırılması için kullanılmıştır. JSR marka JSOF-050 model etüv kurutma işlemleri için kullanılmıştır. Lab Copmanioni marka UCP-02 model ultrasonik banyo cam malzemelerin temizliği ve örnek homojenizasyonu amacı ile kullanılmıştır. N-BioTek marka NB-503CIR model vakumlu buharlaştırıcı solventlerin uzaklaştırılması amacı ile kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan Kimyasallar

Ekstraksiyon işlemi için kullanılan etanol Honeywell'den (ABD) satın alınmıştır. Toplam polisakkarit ve maya hücresi glukoz alım inhibisyonu deneyinde kullanılan D (+) Glucose anhydrous, Carlo Erba, (Almanya)'dan alınmıştır. Yine toplam polisakkarit analizlerinde kullanılan fenol, Riedel de Haen'den (Almanya) temin edilmiştir. Bu analiz için kullanılan sülfirik asit ise Merck&Co'ten (ABD) satın alınmıştır. Toplam protein analizi için Bicinchonic Acid Kiti (BCA Assay kit, Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, ABD) kullanılmıştır. Toplam fenol içeriği

analizinde kullanılan Folin-Ciocalteus Merck&Co'ten (ABD) temin edilmiştir. Toplam fenol analizlerinde kullanılan diğer kimyasallar; gallik asit monohidrat, Carlo Erba'dan (Almanya), sodyum karbonat anhydrous Riedel de Haen'den (Almanya) ve metanol, Honeywell'den (ABD) satın alınmıştır.

Toplam antioksidan kapasitesi analizinde kullanılan kimyasallar; ABTS⁺ (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) Sigma Chemical Co.'dan (St. Louis, MO, ABD), potasyum persülfat Carlo Erba'dan (Almanya), trolox (%97) Acros Organics'ten (Belçika) ve sodyum klorit, Merck&Co'ten (ABD) satın alınmıştır. Alfa-glukozidaz enzim inhibisyonu analizi için kullanılan kimyasallar; dimetil-sülfoksit (DMSO) Amresco'dan (ABD), substrat olarak kullanılan 4-Nitrophenyl-alpha-D-glucopyranoside, AFG Bioscience'tan (ABD), alfa-glukozidaz enzimi (a-glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*) Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) temin edilmiştir. Son olarak maya hücresi glikoz alım inhibisyonu testinde kullanılan maya hücreleri Pakmaya'dan (Türkiye), 3,5-Dinitrosalicylic acid AFG Bioscience'tan (ABD) ve pozitif kontrol olan akarboz (95%) Acros Organics'ten (Belçika) satın alınmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. *Ulva sp.* Ekstraksiyonu

Karşıyaka'dan toplanan deniz marulları yıkanıp iyice temizlenmiştir. Sonrasında etüvde kurutularak ekstraksiyona hazır hale getirilmiştir. Ekstraksiyondan önce bir kahve öğütücü yardımı ile parçalara ayrılmıştır. Ekstraksiyon deney dizaynı, Design-Expert® programı kullanılarak üç farklı parametreye göre yapılmıştır: ekstraksiyon süresi (8/16/24 saat), katı-sıvı oranı (1/20:1/40), etanol-su oranı (0-100%). Parçacık boyutu, sıcaklık (25⁰C) ve karıştırma hızı (150 rpm) sabit tutulmuştur. Ekstraksiyon işlemleri soğutmalı çalkalamalı inkübatörde gerçekleştirilmiştir. Ekstraktların daha konsantre hale gelmesi ve liyofilizasyon öncesi içerisindeki alkolün uçurulması için döner vakum buharlaştırıcı kullanılmıştır. Konsantre edilmiş ekstraktlar liyofilizatörde dondurularak kurutulmuştur.

3.2.2. Tasarımın Uygulanması

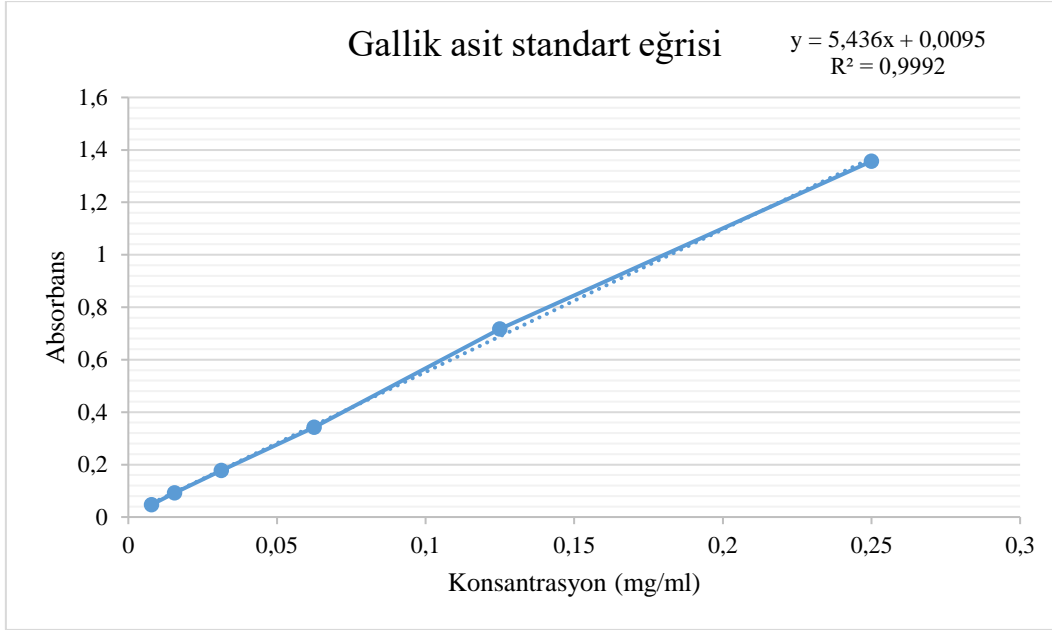
Deneysel tasarım için Design Expert 13.0.5.0 (Stat-Ease Inc.) programı kullanılmıştır. Ekstraksiyon işleminin amacı optimizasyondur bu yüzden yüzey yanıt metodolojisi (YYM) (Response Surface Methodology) olan “Box Behnken Design (BBD)” uygulanmıştır. Box-Behnken metodu 3 bağımsız değişken ve bu bağımsız değişkenlerin 3 seviyede inceleme yapılması için seçilmiştir. Ekstraksiyon aşamasında incelenen bağımsız değişkenler; A: Ekstraksiyon süresi (saat), B: Katı/sıvı oranı, C: Etanol (%) olarak belirlenmiştir. Deney tasarımında Box-Behnken metodu uygulanarak 3 bağımsız değişken, 5 merkez nokta için 17 “run” yani deneme veren tasarım matrisi elde edilmiştir. Replikasyon ve bloklama yapılmamıştır.

3.2.3. Verimin Hesaplanması

Liyofilizatörden çıkan toz haldeki katı *Ulva* ekstraktları toplanarak ağırlıkları ölçülmüştür. Verim hesabı elde edilen özütün ekstrakte edilen *Ulva* miktarına bölünüp 100 ile çarpılması ile yapılmıştır.

3.2.4. Toplam Fenolik Bileşik Miktarının Belirlenmesi

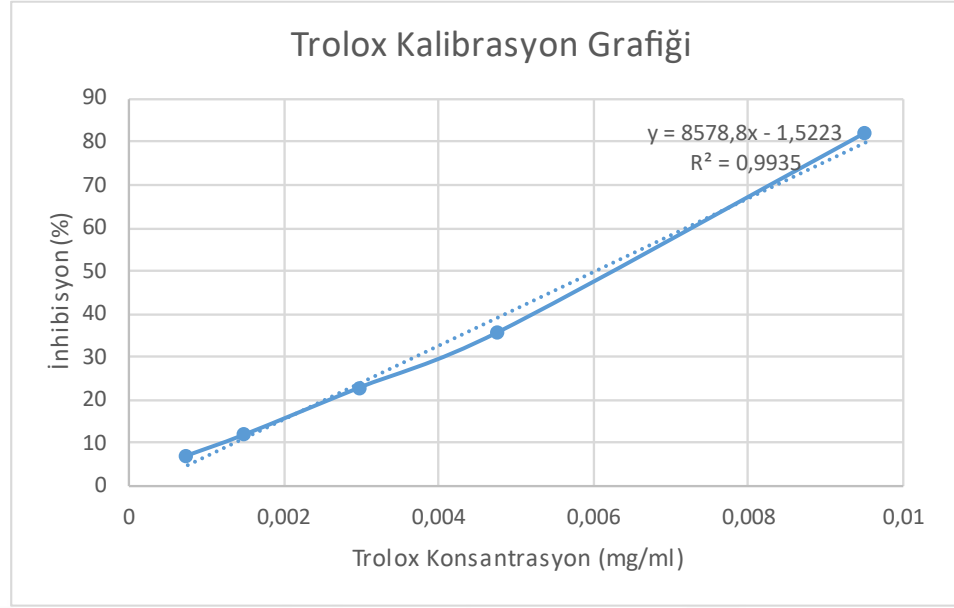
Fenol içeriği gallik asidin standart olarak kullanılacağı Folin-Ciocalteu kolorimetrik yöntemi ile hesaplanmıştır (Singleton ve Rossi, 1965). Örnekler belirlenen konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Sonrasında 96 kuyucuklu plakalara 20’şer µl olarak ekilmiştir. Kontrol grubunun kuyucuklarına ise yine 20’şer µl olacak şekilde metanol ekilmiştir. Ardından 100 µl Folin-Ciocalteu reaktifi eklenerek 5 dakika boyunca karanlık ortamda inkübe edilmiştir. 5 dakikanın sonunda 80 µl doymuş sodyum karbonat ilavesi yapılmıştır. Plaka tekrardan karanlık ortama alınarak 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon biter bitmez 725 nm’de absorbans ölçümü yapılmıştır. Toplam fenolik içerik gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden ifade edilmiştir. Gallik asit standart eğrisi şekilde verilmiştir (Şekil 3.6)



Şekil 3.6. Gallik asit standart eğrisi.

3.2.5. Toplam Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

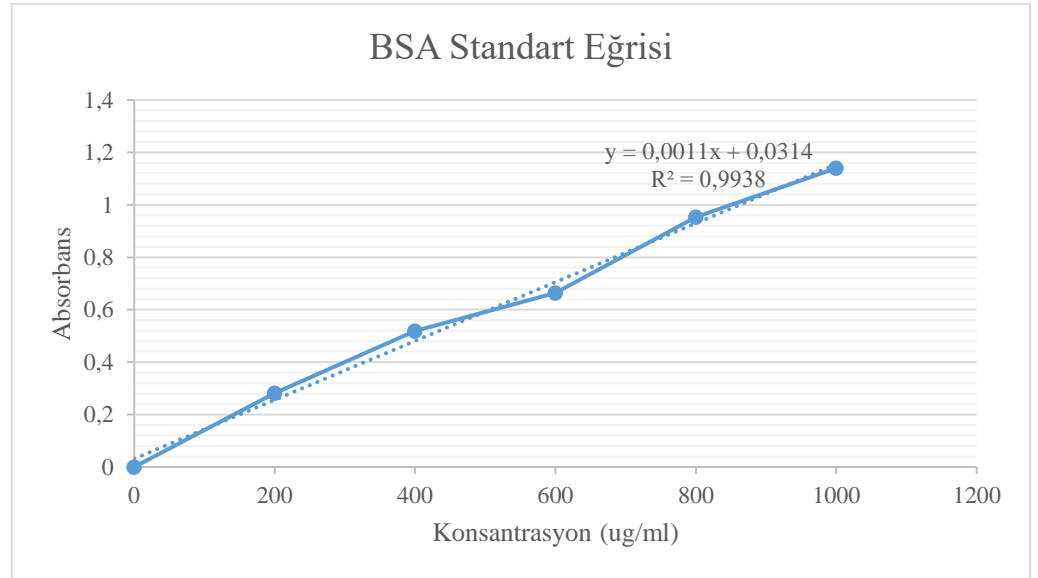
Trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için Miller ve ark. bildirdiği yöntem izlenmiştir (Miller vd., 1993). ABTS-Potasyum persülfat çözeltisi 16 saat inkübe edilerek reaksiyona sokulmuştur. Spektrofotometrede ABTS çözeltisinin absorbansı 0,7 olarak ayarlanmıştır. Aynı konsantrasyonda ayarlanan ekstraktlar 96 kuyucuklu plakalara 10'ar µl ekilmiştir. Ardından 200 µl ABTS çözeltisi eklenerek karanlık ortamda yarım saat inkübe edilmiştir. Yarım saatin sonunda 734 nm'de absorbans ölçümü alınmıştır. Kalibre edilmiş standardın absorbansı ile oksitlenmiş çözeltinin absorbansı karşılaştırarak Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi (TEAC) hesaplanmıştır. Trolox standart eğrisi şekilde verilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Trolox standart eğrisi.

3.2.6. Toplam Protein İçeriğinin Belirlenmesi

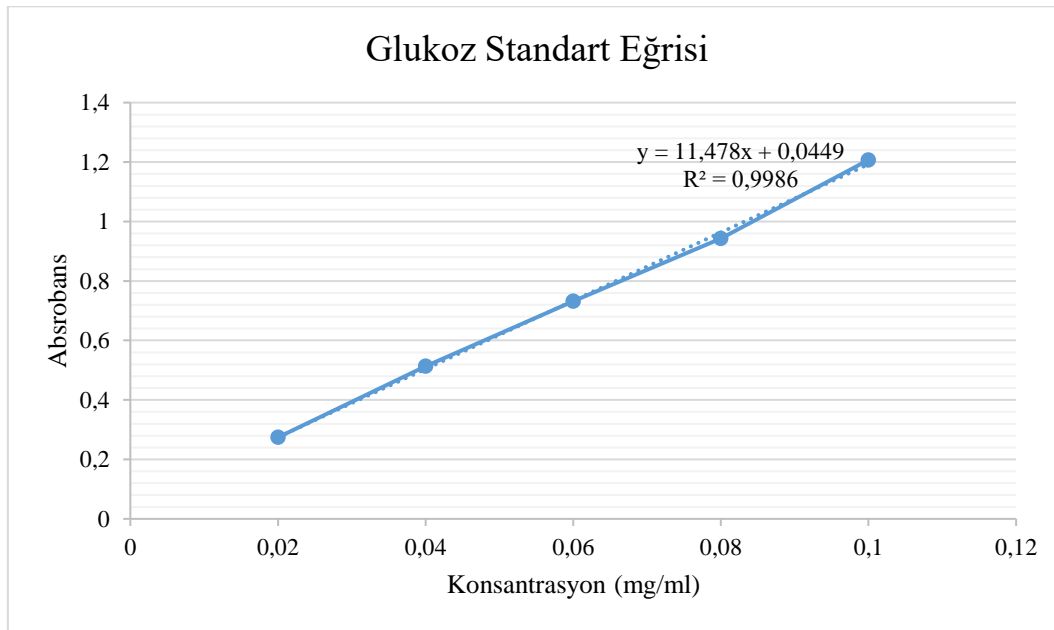
Toplam protein içeriği Bicinchoninic Asit Protein (BCA Assay kit, Sigma-Aldrich) kiti ile belirlenmiştir. BSA standart eğrisi Şekil 3.8’de verilmiştir.



Şekil 3.8. BSA Standart Eğrisi.

3.2.7. Toplam Polisakkarit İçeriğinin Belirlenmesi

Toplam polisakkarit içeriğinin belirlenmesi He ve ark. (Juan He vd., 2018) önerdiği metod ile yapılmıştır. Referans glukoz çözeltisi (103 µg/mL) ile standart eğrisi oluşturulduktan sonra (Şekil 3.9) örnekler hazırlanmıştır. Örnekler %5'lik fenol çözeltisi ve sülfirik asitle muamele edildikten sonra kaynar suda 20 dakika bekletilmiştir. Buz banyosunda 5 dakika soğutulmuştur. Ardından 488 nm'de absorbansı ölçülmüştür.



Şekil 3.9. Glukoz standart eğrisi.

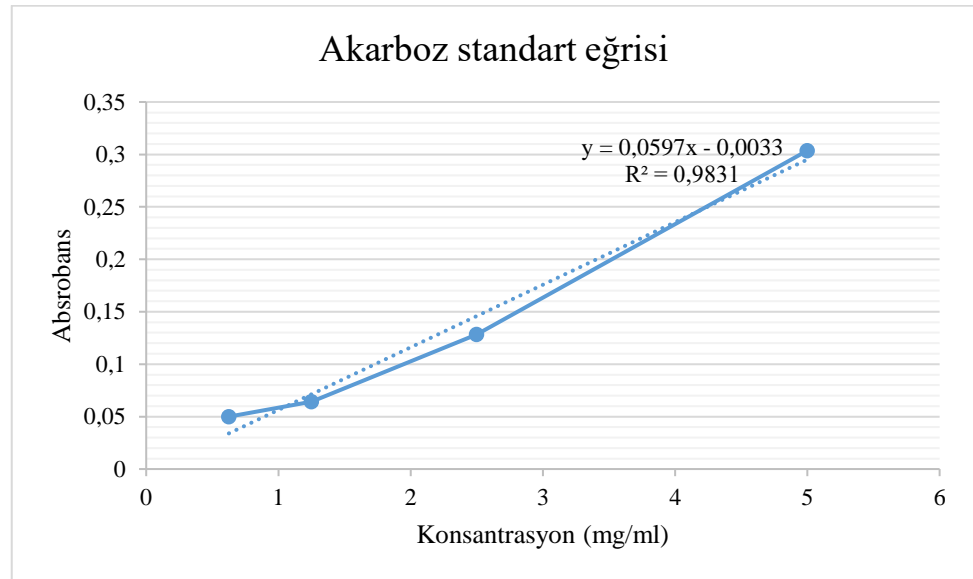
3.2.8. Alfa-Glukozidaz Enzim İnhibisyon Testi

Örnekler %5'lik DMSO içerisinde çözdürülmüştür. Alfa-glukozidaz enzimi (1 U/ml) ve 5 mM 4-Nitrophenyl-alpha-D-glucopyranoside substratı 0,1 M fosfat tamponu içerisinde (pH 6,9) çözdürülmüştür. Akarboz ve örnekler 50 µl hacimde 3 paralel olacak şekilde 96'lık plakaya ekilmiştir. Her bir örnek ve kontrolün üzerine 10 µl enzim eklenmiştir. Sonrasında 50 µl 0,1 M fosfat tamponu eklenerek 37°C 30 rpm'de karanlık ortamda 15 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Ön inkübasyondan sonra, 20 µl hacimde substrat her bir kuyucuğa ilave edilmiştir. Substrat ilave edildikten sonra 37°C 30 rpm'de karanlık ortamda 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından 50 µl 0,1 M sodyum karbonat çözeltisi ile reaksiyon

durdurulmuştur. 405 nm dalga boyunda mikroplaka okuyucuda absorbanans okumaları gerçekleştirilmiştir (Etsassala vd., 2020; Lankatillake vd., 2021; Telagari ve Hullatti, 2015).

3.2.9. Maya Hücresi Glukoz Alım İnhibisyonu Testi

Yıkanan maya hücrelerinin son hacmi %10 v/v' lik olacak şekilde saf su ile süspanse edilir. Her standart konsantrasyonu için falkon tüplerine 2 'şer ml glukoz çözeltisi eklenir, üzerine 200 µL maya çözeltisi ilave edilir. Falkon tüplerinin üzerine farklı konsantrasyonlardaki standart çözeltileri eklenir. Pozitif kontrol için falkon tüplerine 2 'şer ml glukoz çözeltisi eklenir, üzerine 200 µL maya çözeltisi ilave edilir. Falkon tüplerinin üzerine farklı konsantrasyonlardaki akarboz çözeltileri eklenir. Hazırlanan falkon tüpleri çalkalamalı inkübatörde 37°C'de 100 rpm' de 60 dakika boyunca belli bir eğiklikte inkübe edilir. İnkübasyon sonunda tüpler 4°C 3800 rpm 'de 5 dakika santrifüj edilir. Süpernatant kısımlar deney tüplerine alınır. Deney tüplerinin üzerine 1 ml 0,05 M (pH 4,8) asetat tamponu ilave edilir. Sonrasında tüplerin üzerine 3 ml DNS çözeltisi eklenir. Tüpler su banyosunda kaynar suyun içinde 10 dakika inkübasyona bırakılır. Örneklerin biraz soğuması beklenir. Örneklerin spektrofotometre ile 540 nm'de absorbanans değerleri okunur. Şekil 3.10'da akarboz standart eğrisi verilmiştir.



Şekil 3.10. Akarboz standart eğrisi.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çizelge 4. 1’de verilen değerlerde ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Uygulanan ekstraksiyon sonunda verim (%) (R1), toplam polisakkarit içeriği (%) (R2), toplam fenol içeriği (mg GAE/g Kuru Ekstre) (R3), toplam protein (mg BSA/g Kuru Ekstre) (R4), toplam antioksidan kapasitesi (mg Trolox/g Kuru Ekstre) (R5), alfa-glukozidaz inhibitör etki (mg/ml) (R6) ve maya hücresi glukoz alımı inhibitör etki (10 mg/ml) (R7) yanıtları için değerlendirilmiştir. **Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.**’de ise ekstraksiyon için incelenen değerlerin kodlanmış halleri verilmiştir.

Çizelge 4. 1. Bağımsız ekstraksiyon değişkenlerinin deneysel aralıkları ve seviyeleri

Faktör	Faktör seviyeleri		
	-	0	+
A: Ekstraksiyon Süresi (saat)	8	16	24
B: Katı/Sıvı Oranı	20	30	40
C: Etanol Yüzdesi	0	50	100

Çizelge 4.2. Bağımsız ekstraksiyon değişkenlerinin deneysel aralıkları ve seviyelerinin kodlanmış

Faktör	Faktör seviyeleri		
	-	0	+
A: Ekstraksiyon Süresi (saat)	-1	0	+1
B: Katı/Sıvı Oranı	-1	0	+1
C: Etanol Yüzdesi	-1	0	+1

değerleri

Design-Expert programının önerdiği üzere, belirlenen koşullarda ekstraksiyonlar yapılmıştır. 17 farklı ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktların verimleri hesaplanmıştır. Ardından içerik tayinleri ve istenilen biyoaktivite testleri yapılmıştır. Tüm sonuçlar Çizelge 4.3’te verilmiştir.

Çizelge 4. 3. Bağımsız ekstraksiyon değişkenleri için oluşturulan deney tasarımı

Run	Factor 1 A:Zaman saat	Factor 2 B:Kati/sıvı	Factor 3 C:Etanol %	Response 1 Verim	Response 2 Toplam polisakkarit	Response 3 Toplam fenol	Response 4 Toplam protein	Response 5 Antioksidan	Response 6 Alfa- Glukozidaz inhibitör etki	Response 7 Maya Hücresi Glukoz Alımı
1	16	30	50	6,074	7,3	52,51	59,76	52,82	1,2	39,68
2	24	30	100	1,68	4,24	58,2	106,88	37,25	0,82	36,84
3	8	30	100	1,064	1,03	70,14	74,82	28,22	0,61	34,05
4	24	20	50	9,2	7,025	53,38	90,42	57,27	0,8	42,13
5	16	40	0	19,09	13,2	24,91	53,1	55,46	1,28	12,47
6	8	30	0	22,47	11,09	18,4	75,67	42,6	0,65	14,02
7	16	40	100	0,94	6,13	70,39	103,628	34,1	0,64	23,65
8	24	30	0	22,254	12,54	24,38	80,25	56,36	1,6	25,81
9	16	30	50	6,36	7,35	47,81	68,42	47,88	1,67	35,81
10	8	20	50	7,734	6,88	53,72	62,78	45,07	0,45	28
11	16	30	50	6,658	7,1	44,52	56,77	46,13	1,1	38,3
12	16	20	100	0,856	6,93	82,15	69,1	51,96	1,2	38,12
13	16	20	0	15,532	15,42	29,17	94,07	63,63	1,46	18,91
14	16	30	50	6,208	7,5	48,61	56,82	49,98	1,3	36,55
15	8	40	50	8,786	6,34	47,37	49,19	42,63	0,17	26,12
16	16	30	50	4,889	5,08	45,63	60,82	44,12	1,18	35,3
17	24	40	50	9,284	9,96	58,6	90,16	49,71	0,35	18,58

Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı. 'te yapılan ekstraksiyon sonunda elde edilen yanıt değişkenleri ve bunların maksimum minimum değerleri, ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir.

Çizelge 4. 4. Yanıt tablosu

Response	Name	Units	Observations	Minimum	Maximum	Ortalama	Standart sapma	Ratio
R1	Verim	%	17,00	0,856	22,47	8,77	7,05	26,25
R2	Toplam polisakkarit	%	17,00	1,03	15,42	7,95	3,53	14,97
R3	Toplam fenol	Mg GAE/g Kuru Ekstre	17,00	18,4	82,15	48,82	17,29	4,46
R4	Toplam protein	Mg BSA/g Kuru Ekstre	17,00	49,19	106,88	73,69	17,92	2,17
R5	Antioksidan	Mg Trolox/g Kuru Ekstre	17,00	28,22	63,63	47,36	8,94	2,25
R6	Alfa-glukozidaz	IC50 (mg/ml)	17,00	0,17	1,67	0,9694	0,4462	9,82
R7	Maya Hücresi Glukoz Alımı İnhibisyonu	10 mg/ml için %İnhibisyon	17,00	12,47	42,13	29,67	9,47	3,38

4.1. Sonuçların Değerlendirilmesi

Optimizasyon çalışmasında seçilen bağımsız değişkenlerin tek tek bireysel etkileri ve aralarındaki interaksyonlar, YYM ile lineer, kuadratik ve kübik model kullanılarak analiz edilmiştir. En uygun modelin seçilmesi amacıyla; modelin anlamlılık derecesi ($p < 0,05$), model uygunsuzluğu (Lack of fit) ($p > 0,05$), regresyon katsayısı (R^2), düzeltilmiş regresyon katsayısı ($Adj-R^2$), tahminlenmiş residual hata kareler toplamı (PRESS) ve tahminlenmiş çoklu belirleme katsayısı ($Pre-R^2$) istatistiksel parametreleri kullanılmıştır.

Regresyon sonucu ortaya çıkan varyasyonun %95 güven aralığında anlamlı (significant) durumda görülmesi ve model uygunsuzluğu değerinden kaynaklanan hatanın anlamsız (not significant) olması modelin uygunluğunu göstermiştir.

4.1.1. Verim

Ekstraksiyon verimleri incelendiğinde en yüksek verimin %22,47 ile %100 su, 1/30 katı-sıvı oranı ve 8 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edildiği görülmüştür. En düşük verim ise %0,85 ile %100 etanol 1/20 katı-sıvı oranı ve 16 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edilmiştir. Biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyon verimi solvent tipi, solventin katıya oranı, sıcaklık ve ekstraksiyon süresi gibi farklı koşullara bağlı olarak değişir. Ekstraksiyon verimi ve biyoaktiviteyi en üst düzeye çıkarmak için bu koşulların optimize edilmesi gerekir (Suchinina vd., 2011). Genel olarak sonuçlar incelendiğinde etanolün ekstraksiyon verimini düşürdüğü gözlemlenmiştir. Bunun sebebi *Ulva sp.* içeriğinde polisakkaritler gibi suda çözünen apolar bileşiklerin yüksek miktarda (%49,9) bulunmasıdır (Strati ve Oreopoulou, 2011). Literatüre bakıldığında *Ulva sp.* olan *U. lactuca*'nın etanol-su karışımlarının ekstraksiyon veriminin %10-15 olduğu görülmüştür (Pappou vd., 2022). Diğer ekstraksiyon koşulları incelendiğinde ekstraksiyon verimlerinin literatür ile uyumlu olduğu sonucuna varılmıştır.

Verim (%) için ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi sonuçları incelendiğinde, optimizasyon çalışmasında model olarak kuadratik model seçilmiştir.

Kuadratik modelde ekstraksiyon verimi (%) cevabı için anlamlı terimler varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlenmiştir ($p < 0,05$). Optimizasyon çalışmasında belirlenen her bağımsız değişkenin yanıt üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak model açısından önemliliği ifade eden F ve p-değerleri incelenmiştir. Her bir bağımsız değişkenin ana etkileri, interaksiyonları ve ikinci dereceden ifadelerinden p değeri 0,05'ten küçük olanların anlamlı olduğu kabul edilmiştir. Model uygunsuzluğunun ise %95 güven seviyesinde önemsiz çıktığı görülmüştür. Çizelge 4.5'te rapor edilen ANOVA'da Model F değeri 58,38'dir. Bu kadar büyük bir F değerinin oluşma olasılığı %0,01 olduğu için model önemlidir (significant). Model uygunsuzluğunun F değeri 6,29'dur, böyle büyük bir uyum eksikliğinin meydana gelme olasılığı %5,13'tür. Tek tek faktörlerin etkisine bakılıp incelendiğinde anlamlı olan ifadelerle göre sadeleştirilen model denklemi model uygunsuzluğu değerinin anlamsız çıkması ile kullanılabilir.

Çizelge 4.5. Verim için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi

ANOVA for Reduced Quadratic model						
Response 1: Verim						
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi (df)	Kareler ortalaması	F-değeri	p-değeri	
Model	782,61	8	97,83	58,38	< 0.0001	anlamlı
A-Zaman	0,6986	1	0,6986	0,4169	0,5366	
B-Katı/sıvı	2,85	1	2,85	1,70	0,2282	
C-Etanol	699,49	1	699,49	417,41	< 0.0001	
AB	0,2343	1	0,2343	0,1398	0,7182	
AC	0,1731	1	0,1731	0,1033	0,7562	
BC	3,02	1	3,02	1,80	0,2165	
A ²	31,62	1	31,62	18,87	0,0025	
C ²	40,32	1	40,32	24,06	0,0012	
Artık (Hata)	13,41	8	1,68			
Model uygunsuzluğu	11,57	4	2,89	6,29	0,0513	anlamsız
Saf Hata	1,84	4	0,4596			
Toplam	796,01	16				

Regresyon katsayısı (R^2) modelin deneysel veriyi ne ölçüde karşıladığını göstermekle birlikte birden fazla bağımsız değişkeni içeren modellerde, düzeltilmiş regresyon katsayısı ($Adj-R^2$) ve varyasyon katsayısına (C.V.) da bakılarak modelin deneysel veriyi hangi ölçüde karşıladığını sağladığını göstermektedir. Seçilen kuadratik model için hesaplanan değerler Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Verim için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan değerler

Standart Sapma	1,29	R^2	0,9832
Ortalama	8,77	$Adj-R^2$	0,9663
C.V. %	14,76	$Pred-R^2$	0,8510
Adeq Precision			23,1413

Optimizasyon çalışmasında seçilen model için R^2 değeri 0,9832, $Adj-R^2$ değeri ise 0,9663'tür. R^2 değerinin 1'e yakın olması istenmektedir. Bu yanıt için R^2 değeri sınırlar içerisinde. $Pred-R^2$ ve $Adj-R^2$ değerlerinin arasındaki farkın 0,2'den küçük olması istenir, verim yanıtı için bu değerlerin farkının 0,2'den küçük olduğu görülmektedir. Bu da modelin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir. Mevcut modelin bir tahminleme modeli olarak kullanılmasında dikkat edilecek bir diğer değer "Adeq Precision" değerinin 4'ten büyük olmasıdır (Myers and Montgomery, 1995). Mevcut seçilen modelde bu değer 23,1413'tür. Bu tasarımdan elde edilen model denklemi tasarım sınırları içindeki tüm bağımsız değişken değerleri için yanıt değeri olan verim hakkında tahminde bulunmak için kullanılabilir.

Design-Expert ® yazılımı, varsayılan olarak, aşağıdaki formüle göre her faktör için en düşük -1'e ve en yüksek +1'e ayarlandığı kodlanmış ölçeği kullanarak regresyon hesaplamaları gerçekleştirir.

$$Kodlanmış = \frac{2 * (Gerçek\ değer - Ortalama\ gerçek\ değer)}{(Düşük\ ve\ yüksek\ gerçek\ değerler\ arasındaki\ aralık)}$$

Örneğin, bir faktörün düşük değeri 30 ve yüksek değeri 50 ise, ortalama 40 ve aralık 20'dir. Bir çalışmada 35 değeri kullanılırsa, kodlanan değer; $(35-40)/(20/2) = -5/10 = -0,5$ olur.

Design-Expert, hem kodlanmış hem de gerçek ölçekli modeller denklemleri oluşturur. Kodlanmış bir modelden gerçek bir modele dönüşüm için tüm gerçek faktör aralıklarının ve kodlanmış modelin bilinmesini gerekir.

Yapılan ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi sonucunda ekstraksiyon verimi (%) üzerinde etkili olan bağımsız değişkenler için kullanılan kuadratik model ile oluşturulmuş eşitlikler aşağıda kodlanmış ve gerçek değişkenler cinsinden aşağıdaki verilmiştir.

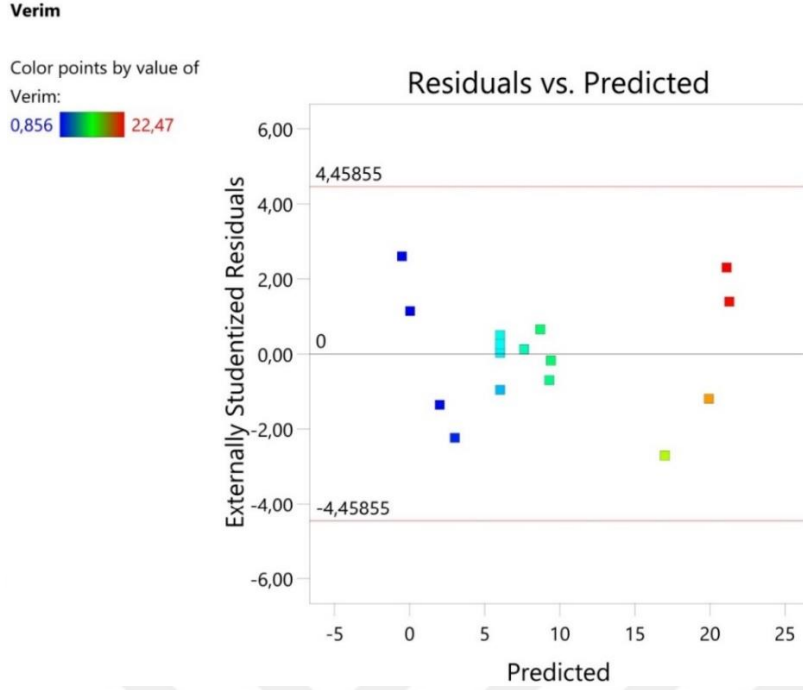
Kodlanmış bağımsız değişkenler cinsinden model denklemi için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

$$\text{Verim } \% = 6,03 + 0,2955*A + 0,5973*B - 9,35*C - 0,242*AB + 0,208*AC - 0,8685*BC + 2,74*A^2 + 3,09*C^2$$

Gerçek bağımsız değişkenler cinsinden model denklemi için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

$$\text{Verim } \% = 23,39018 - 1,26659*Zaman + 0,194975*Katı/Sıvı - 0,266827*Etanol - 0,003025*Zaman*Katı/sıvı + 0,000520*Zaman*Etanol - 0,001737*Katı/Sıvı*Etanol + 0,042759*Zaman^2 + 0,001236*Etanol^2$$

Artık hata analizi, model uygunluğunun ve varsayımların test edilmesi için önem taşıyan bir başka parametredir. Bu amaçla, tahminlenen değerlere karşı artık grafiği Şekil 4.1'de verilmiştir. Artık hata modeli beklenen ve tahmin edilen arasındaki farktır. Bu grafikte değerlerin 0 çizgisi çevresinde bir bant oluşturması beklenir. Grafikte tek bir uç değer bulunması grafiğin uyumlu olduğunu gösterir.

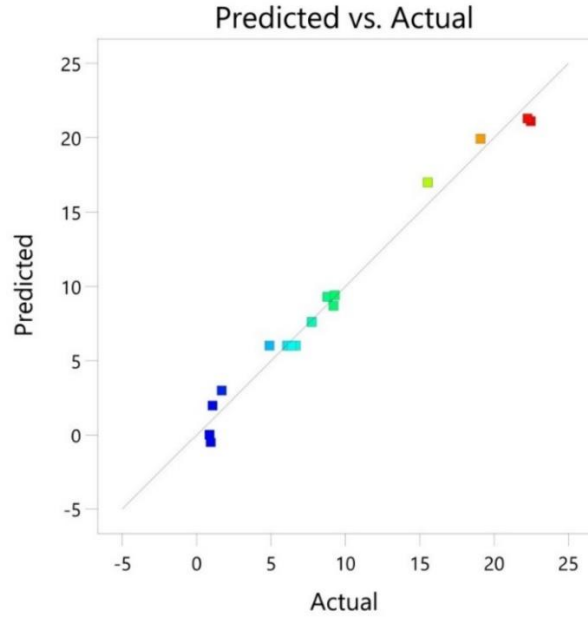


Şekil 4.1. Verim için artık hataya karşı model tahminleri grafiği.

Ekstraksiyon verimi için model denklemi ile tahminlenen değerler ile deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Şekil 4.2’de grafikteki noktaların lineer doğruya yakın yani tahmin edilen ve deneysel değerlerin birbirine yakın, üst üste örtüşmesi istenir. Bu tasarım için gözlenen ve beklenen değerlerin birkaç değer hariç birbiriyle örtüştüğü görülmektedir.

Verim

Color points by value of Verim:
0,856  22,47

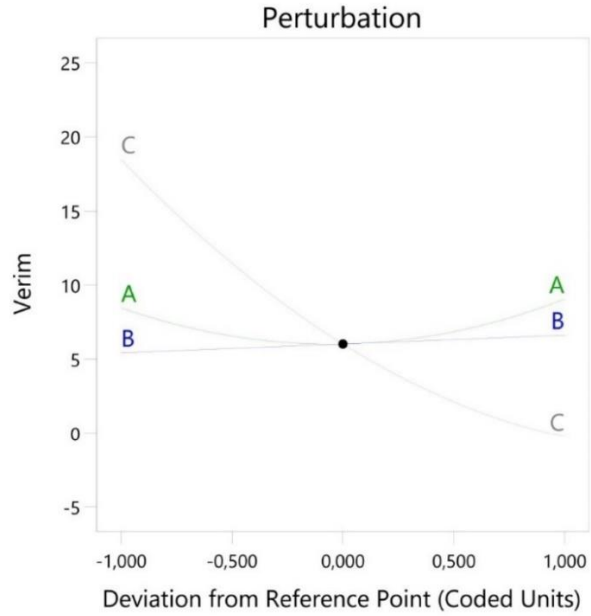


Şekil 4.2. Verim için tahmin edilen değerlere karşı deneysel değerler grafiği.

Factor Coding: Actual

Verim

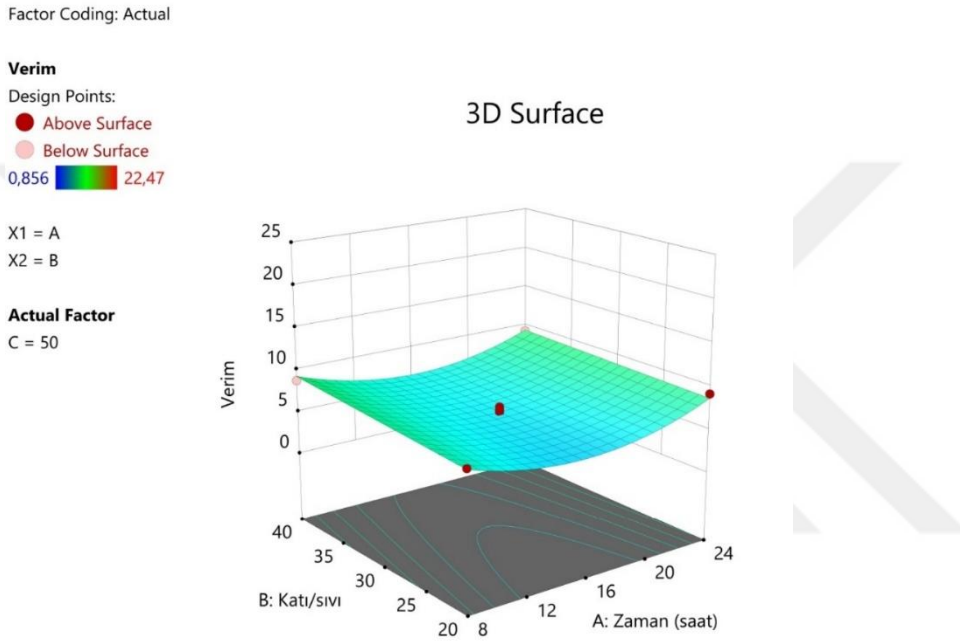
Actual Factors
A = 16
B = 30
C = 50



Şekil 4.3. Bağımsız değişkenlerin verim üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.

Şekil 4.3'te faktörler orta noktada kesişmektedir. Verim için en etkili olan faktör etanol yüzdesidir (C). Ekstraksiyon süresi (B) ve katı/sıvı oranı (C) etkilerinin büyüklüğü ve yanıt üzerindeki etkileri birbirine benzerdir.

Yapılan analizler sonucunda elde edilen model kullanılarak verimin (%) 3 boyutlu yüzey eğrileri çizilmiştir. Mevcut çalışmaya ait analiz sonucunda elde edilen grafikler Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6’da gösterilmiştir. Bu grafikler, faktörlerden birinin deneysel tasarımın merkez noktasında (0) sabit tutulup, diğer iki değişkenin kombinasyonunun verim üzerindeki etkisini göstermektedir. Şekil 4.4 ekstraksiyon süresinin ve katı/sıvı oranının verime olan etkisini göstermektedir. Verim için her iki parametre de yakın etki göstermiştir.



Şekil 4.4. Verim için zaman (saat) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.

Şekil 4.5 etanol oranı ve zamanın verim üzerine etkisini göstermektedir. Bu grafiğe bakıldığında etanolün zamana göre verim üzerinde çok daha etkili olduğu görülmektedir. Ekstraksiyon zamanının artmasının bağımlı değişken olan ekstrakt verimi üzerine etkisinin en az olduğu sonucu Pappou vd. (2022) yaptığı çalışma ile uyumlu bulunmuştur.

Factor Coding: Actual

Verim

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

0,856  22,47

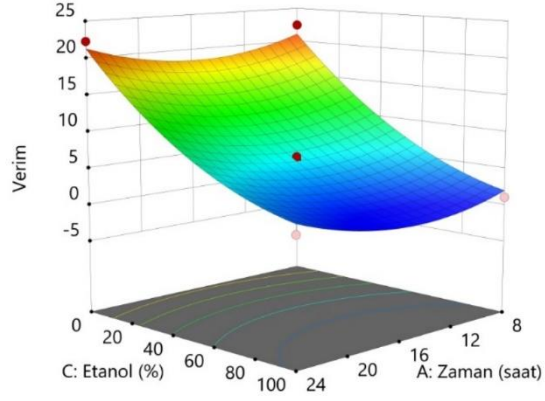
X1 = A

X2 = C

Actual Factor

B = 30

3D Surface



Şekil 4.5. Verim için etanol (%) ve zaman etkileşiminin 3D grafiği.

Şekil 4.6, etanol oranı ve katı/sıvı oranının verim üzerindeki etkisini ifade etmektedir. Üç grafik incelendiğinde etanol yüzdesinin en etkili faktör olduğu görülmüştür.

Factor Coding: Actual

Verim

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

0,856  22,47

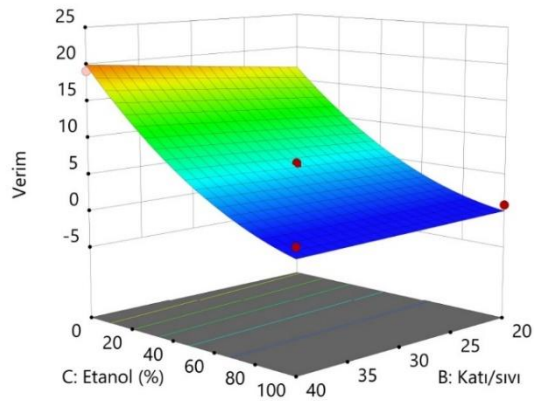
X1 = B

X2 = C

Actual Factor

A = 16

3D Surface



Şekil 4.6. Verim için etanol (%) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.

4.1.2. Toplam Polisakkarit

Kuru ağırlık başına % polisakkarit miktarı incelendiğinde en yüksek polisakkarit içeriğinin %15,4 ile %100 su, 1/20 katı-sıvı oranı ve 16 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edildiği görülmüştür. En düşük polisakkarit içeriği ise %1,03 ile %100 etanol 1/30 katı-sıvı oranı ve 8 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edilmiştir. Genel olarak sonuçlar incelendiğinde etanol oranının artması ile % polisakkarit içeriğinin düştüğü gözlemlenmiştir. Bunun sebebi *Ulva sp.* içeriğinde polisakkaritlerin suda çözünen apolar bileşiklerin yüksek miktarda bulunmasıdır. *Ulva sp.* nin birçok farklı türü bulunur. *Ulva* türlerinden ulvan polisakkaritlerinin çıkarılmasına yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar incelendiğinde ulvan ekstraksiyon verimi, ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak %0,1 ile %90 aralığında değişmektedir (Yaich vd., 2013). Ancak İzmir kıyılarında daha sık bulunan *U. lactuca* ve *Ulva rigida* gibi türlerde polisakkarit içeriği sırasıyla ortalama %16,6 ila %10,9 civarında değiştiği görülmüştür (Yaich vd., 2013). Yine *U. lactuca* ile yapılan bir çalışmada karbonhidrat içeriği %16,19 olarak bildirilmiştir (Benítez-García vd., 2020). Bu sonuçlar deney bulguları ile paraleldir.

Toplam polisakkarit (%) için ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi sonuçları incelendiğinde, optimizasyon çalışmasında model olarak kuadratik model seçilmiştir.

Kuadratik modelde toplam polisakkarit (%) cevabı için anlamlı terimler varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlenmiştir ($p < 0,05$). Optimizasyon çalışmasında belirlenen her bağımsız değişkenin yanıt üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak model açısından önemliliği ifade eden F ve p-değerleri incelenmiştir. Her bir bağımsız değişkenin ana etkileri, interaksiyonları ve ikinci dereceden ifadelerinden p değeri 0,05' ten küçük olanların anlamlı olduğu kabul edilmiştir, model uygunsuzluğu ise %95 güven seviyesinde önemsiz çıktığı görülmüştür. Çizelge 4.7'de rapor edilen ANOVA 'da Model F değeri 20,34'tür. Bu kadar büyük bir F değerinin oluşma olasılığı %0,01 olduğu için model anlamlıdır (significant). Model uygunsuzluğunun F değeri 1,29'dur, böyle bir uyum eksikliğinin meydana gelme olasılığı %40,55'tir. Tek tek faktörlerin etkisine bakılıp incelendiğinde anlamlı olan ifadelerle göre sadeleştirilen model denklemi model uygunsuzluğu değerinin anlamsız çıkması ile kullanılabilir.

Çizelge 4.7. Toplam polisakkarit (%) için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi

ANOVA for Reduced Quadratic model						
Response 2: Toplam Polisakkarit						
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi (df)	Kareler ortalaması	F-değeri	p-değeri	
Model	189,55	8	23,69	20,34	0,0002	significant
A-Zaman	8,87	1	8,87	7,62	0,0247	
B-Katı/sıvı	0,0488	1	0,0488	0,0419	0,8429	
C-Etanol	143,82	1	143,82	123,47	< 0.0001	
AB	3,02	1	3,02	2,59	0,1461	
AC	0,7744	1	0,7744	0,6648	0,4385	
A ²	6,63	1	6,63	5,69	0,0441	
B ²	15,85	1	15,85	13,61	0,0061	
C ²	10,97	1	10,97	9,41	0,0154	
Artık (Hata)	9,32	8	1,16			
Model uyumsuzluğu	5,25	4	1,31	1,29	0,4055	not significant
Saf Hata	4,07	4	1,02			
Toplam	198,87	16				

Optimizasyon çalışmasında seçilen model için R^2 değeri 0,9531, Adj- R^2 değeri ise 0,9063'tür. R^2 değerinin 1'e yakın olması istenir ve toplam polisakkarit (%) yanıtı için R^2 değeri sınırlar içerisinde. Pred- R^2 ve Adj- R^2 değerlerinin arasındaki farkın 0,2'den küçük olması istenir, toplam polisakkarit yanıtı için bu değerlerin farkının 0,2'den küçük olduğu görülmektedir. Bu da modelin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir. Mevcut modelin kullanılması için "Adeq Precision" değerinin 4'ten büyük olmalıdır. Mevcut seçilen modelde bu değer 16,8681'dir (**Hata! Yer işareti başvurusu geçersiz.**). Bu tasarımdan elde edilen model denklemini tasarım sınırları içindeki tüm bağımsız değişken değerleri için yanıt değeri olan toplam polisakkarit (%) hakkında tahminde bulunmak için kullanılabilir.

Çizelge 4.8. Toplam polisakkarit için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan değerler

Standart sapma	1,08	R ²	0,9531
Ortalama	7,95	Adj-R ²	0,9063
C.V. %	13,58	Pred-R ²	0,7163
Adeq Precision			16,8681

Yapılan ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi sonucunda toplam polisakkarit (%) üzerinde etkili olan bağımsız değişkenler için kullanılan kuadratik model ile oluşturulmuş eşitlikler aşağıda kodlanmış ve gerçek değişkenler cinsinden aşağıdaki verilmiştir.

Kodlanmış bağımsız değişkenler cinsinden model denklemini için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

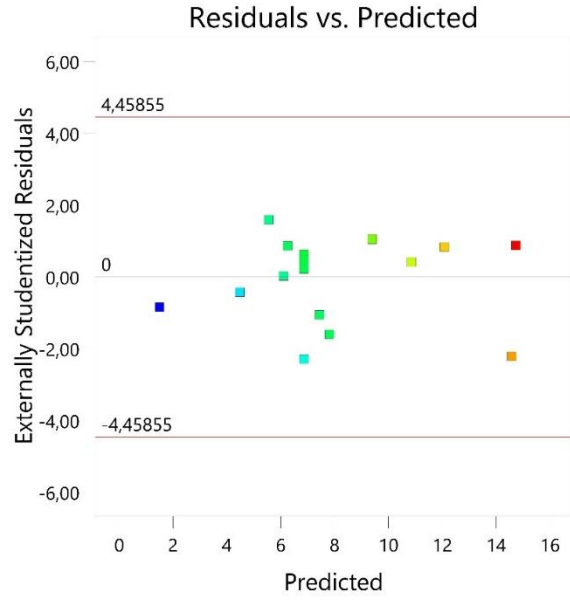
$$\text{Toplam polisakkarit (\%)} = 6,87 + 1,05*A - 0,0781*B - 4,24*C + 0,8687*AB + 0,44*AC - 1,25*A^2 + 1,94*B^2 + 1,61*C^2$$

Gerçek bağımsız değişkenler cinsinden model denklemini için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

$$\text{Toplam polisakkarit (\%)} = 29,38213 + 0,378297*Zaman - 1,34564*Katı/Sıvı - 0,166955*Etanol + 0,010859*Zaman*Katı/Sıvı + 0,0011*Zaman*Etanol - 0,019607* Zaman^2 + 0,019401* Katı/Sıvı^2 + 0,000646* Etanol^2$$

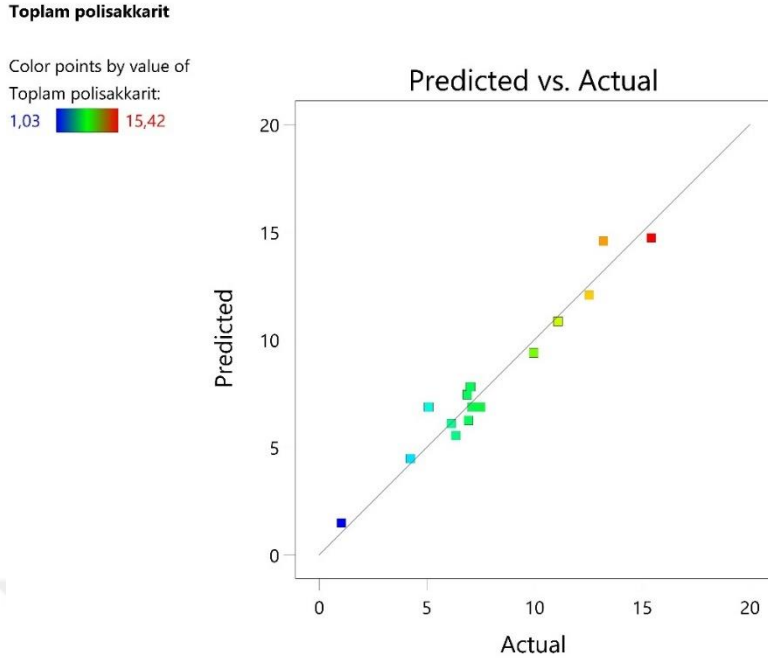
Toplam polisakkarit

Color points by value of
Toplam polisakkarit:
1,03  15,42



Şekil 4.7. Toplam polisakkarit için artık hataya karşı model tahmin edilen değerler grafiği.

Artık analizi, model uygunluğunun ve varsayımların test edilmesi için önem taşıyan bir başka parametredir. Bu amaçla, tahminlenen değerlere karşı artık hata grafiği **Şekil 4.7.** Toplam polisakkarit için artık hataya karşı model tahmin edilen değerler grafiği.Şekil 4.7’de verilmiştir. Artık hata modeli beklenen ve tahmin edilen arasındaki farktır. Bu grafikte değerlerin 0 çizgisi çevresinde bir bant oluşturması beklenir. Grafikte uç değer bulunmaması grafiğin uyumlu olduğunu gösterir.



Şekil 4.8. Toplam polisakkarit için edilen değerlere karşı deneysel değerler için tahmin grafiği.

Toplam polisakkarit için model denklemleri ile tahminlenen değerler ile deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil 4.8’te gösterilmiştir. Şekil 4.8’te grafikteki noktaların lineer doğruya yakın yani tahmin edilen ve deneysel değerlerin birbirine yakın, üst üste örtüşmesi istenir. Bu tasarım için gözlenen ve beklenen değerlerin birkaç değer hariç birbiriyle örtüştüğü görülmektedir.

Factor Coding: Actual

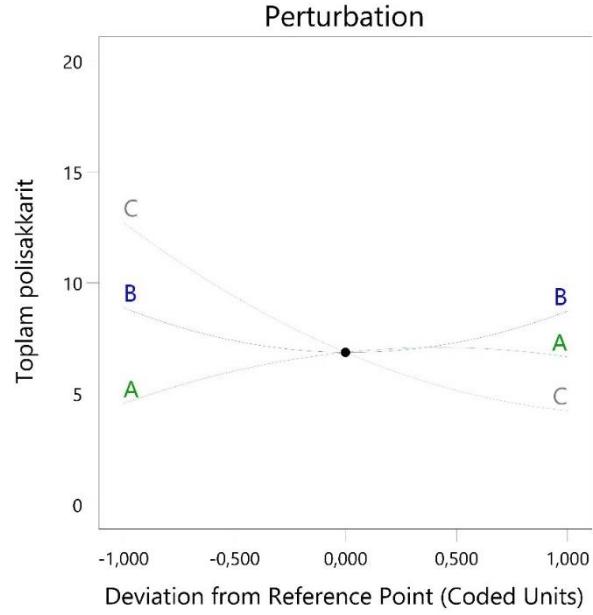
Toplam polisakkarit

Actual Factors

A = 16

B = 30

C = 50

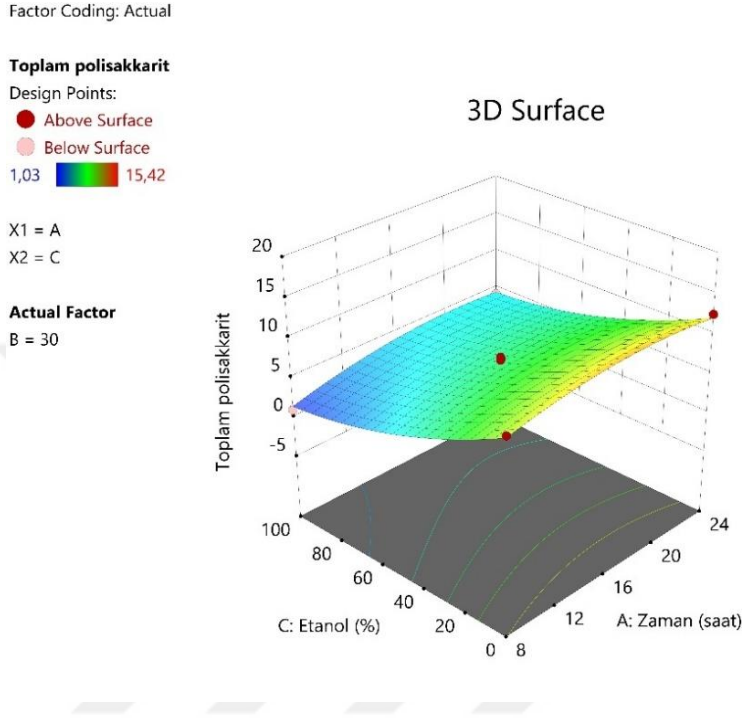


Şekil 4.9. Bağımsız değişkenlerin toplam polisakkarit üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.

Şekil 4.9’da faktörler orta noktada kesişmektedir. Toplam polisakkarit (%) için en etkili olan faktör etanol yüzdesidir (C). Ekstraksiyon süresi (A) ve katı/sıvı oranı (B) etkilerinin büyüklüğü ve yanıt üzerindeki etkileri birbirine benzerdir.

Yapılan analizler sonucunda elde edilen model kullanılarak toplam polisakkaritin (%) 3 boyutlu yüzey eğrileri çizilmiştir. Mevcut çalışmaya ait optimizasyon sonucunda elde edilen grafikler Şekil 4.10 ve Şekil 4.11’de gösterilmiştir. Bu grafikler, faktörlerden birinin deneysel tasarımın merkez noktasında (0) sabit tutulup, diğer iki değişkenin kombinasyonunun toplam polisakkaritin (%) üzerindeki etkisini göstermektedir.

Şekil 4.10 incelendiğinde etanol (%) azalması toplam polisakkarit (%) yanıtı üzerinde olumlu etki yapmaktadır. Aynı şekilde zamanın (saat) artması ile de toplam polisakkarit (%) oranı artmaktadır.



Şekil 4.10. Toplam polisakkarit için Etanol (%) ve Zaman etkileşiminin 3D grafiği.

Şekil 4.11 katı/sıvı oranı ve zamanın toplam polisakkarit yüzdesi üzerindeki etkisi incelenmektedir. Bu grafiğe göre katı/sıvı oranı ve zaman parametrelerinin çözgen polaritesine oranla toplam polisakkarit üzerinde daha az etkili olduğu söylenebilir.

Factor Coding: Actual

Toplam polisakkarit

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

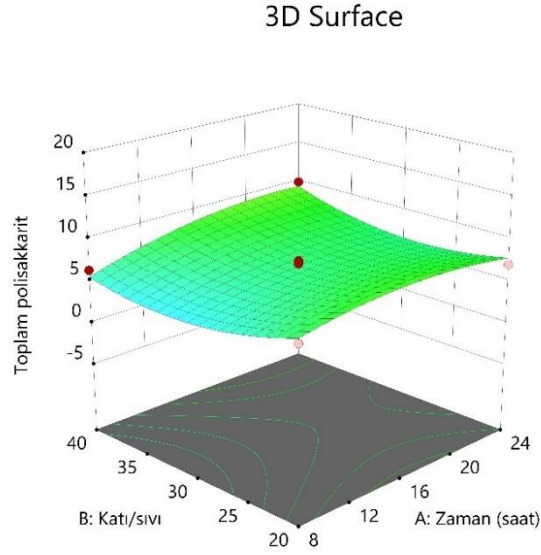
1,03  15,42

X1 = A

X2 = B

Actual Factor

C = 50



Şekil 4.11. Toplam polisakkarit için Katı/Sıvı Oranı ve Zaman etkileşiminin 3D grafiği.

4.1.3. Toplam Fenol Kapasitesi

Gallik asit eşdeğeri (mg/g kuru ekstre) olarak hesaplanan toplam fenol miktarı incelendiğinde en yüksek fenol içeriğinin 82,15 mg GAE/g kuru ekstre ile %100 etanol, 1/20 katı-sıvı oranı ve 16 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edildiği görülmüştür. En düşük fenol içeriği ise 18,4 mg GAE/g kuru ekstre ile %100 su, 1/30 katı-sıvı oranı ve 8 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edilmiştir. *U. lactuca*'nın 3 saat 1/10 oranında su ile ekstraksiyonu sonucu toplam fenol içeriği 27,29 mg GAE/g kuru ekstre olarak bildirilmiştir (Benítez-García vd., 2020). Başka bir çalışmada ise *U. rigida*'nın %80 etanol içeren çözücü ile yapılan ekstraksiyonlarında toplam fenol kapasitesi 0,53 g GAE/100 g ekstrakt olarak bulunmuştur (Neto vd., 2018). Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için organik çözücüler ve genellikle su kullanılır (Fernández-Agulló vd., 2013). Ancak, fenolik bileşiklerin en iyi çözücüsü hakkında belirsizlikler vardır. Literatür, fenol çıkarmak için en iyi çözücü olmadığını gösterse de, genellikle daha yüksek polariteye sahip çözücülerin daha iyi performans gösterebileceği düşünülmektedir. Bu çözücülerin etkinliği, çözünen maddenin yapısının çözücülerdeki çözünürlüğünü etkileyen önemli bir faktör olduğu belirtilmektedir (Borjan vd., 2020). Optimizasyon için

yapılan deneyler ile karşılaştırıldığında sulu ekstraktların toplam fenol kapasitesinin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Toplam fenol kapasitesi (mg GAE/g Kuru Ekstre) için ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi sonuçları incelendiğinde, optimizasyon çalışmasında model olarak kuadratik model seçilmiştir.

Kuadratik modelde toplam fenol (mg GAE/g Kuru Ekstre) cevabı için anlamlı terimler varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlenmiştir ($p < 0,05$). Optimizasyon çalışmasında belirlenen her bağımsız değişkenin yanıt üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak model açısından önemliliği ifade eden F ve p-değerleri incelenmiştir. Her bir bağımsız değişkenin ana etkileri, interaksiyonları ve ikinci dereceden ifadelerinden p değeri 0,05' ten küçük olanların anlamlı olduğu kabul edilmiştir. Model denkleminin geliştirilmesi için anlamsız olan ifadeler denkleme eklenmiştir. Model uygunsuzluğu ise %95 güven seviyesinde önemsiz çıktığı görülmüştür (Çizelge 4.9). Çizelge 4.9'da rapor edilen ANOVA 'da Model F değeri 34,54'tür. Bu kadar büyük bir F değerinin oluşma olasılığı %0,01 olduğu için model anlamlıdır (significant). Model uygunsuzluğunun F değeri 2,52'dir, böyle büyük bir uyum eksikliğinin meydana gelme olasılığı %19,68'dir. Tek tek faktörlerin etkisine bakılıp incelendiğinde anlamlı olan ifadelere göre sadeleştirilen model denklemi model uygunsuzluğu değerinin anlamsız çıkması ile kullanılabilir.

Çizelge 4.9. Toplam fenol kapasitesi için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi

ANOVA for Reduced Quadratic model						
Response 3: Toplam fenol						
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi (df)	Kareler ortalaması	F-değeri	p-değeri	
Model	4650,43	8	581,30	34,54	< 0.0001	significant
A-Zaman	3,04	1	3,04	0,1805	0,6821	
B-Katı/sıvı	36,77	1	36,77	2,18	0,1777	
C-Etanol	4232,92	1	4232,92	251,49	< 0.0001	
AB	33,47	1	33,47	1,99	0,1962	
AC	80,28	1	80,28	4,77	0,0605	
BC	14,06	1	14,06	0,8355	0,3874	
B ²	211,24	1	211,24	12,55	0,0076	
C ²	49,22	1	49,22	2,92	0,1256	
Artık (Hata)	134,65	8	16,83			
Model uyumsuzluğu	96,34	4	24,09	2,52	0,1968	not significant
Saf Hata	38,31	4	9,58			
Toplam	4785,08	16				

Optimizasyon çalışmasında seçilen model için R^2 değeri 0,9719, $Adj-R^2$ değeri ise 0,9437'dir. R^2 değerinin 1'e yakın olması istenmektedir. Bu yanıt için R^2 değeri sınırlar içerisindedir. $Pred-R^2$ ve $Adj-R^2$ değerlerinin arasındaki farkın 0,2'den küçük olması istenir, toplam fenol yanıtı için bu değerlerin farkının 0,2'den küçük olduğu görülmektedir. Bu da modelin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir. Mevcut modelin kullanılması için "Adeq Precision" değerinin 4'ten büyük olmalıdır. Mevcut seçilen modelde bu değer 20,8348'dir (Hata! Yer işareti başvurusu geçersiz.).

Çizelge 4.10. Toplam fenol için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan değerler

Standart sapma	4,10	R ²	0,9719
Ortalama	48,82	Adj-R ²	0,9437
C.V. %	8,40	Pred-R ²	0,7915
Adeq Precision			20,8348

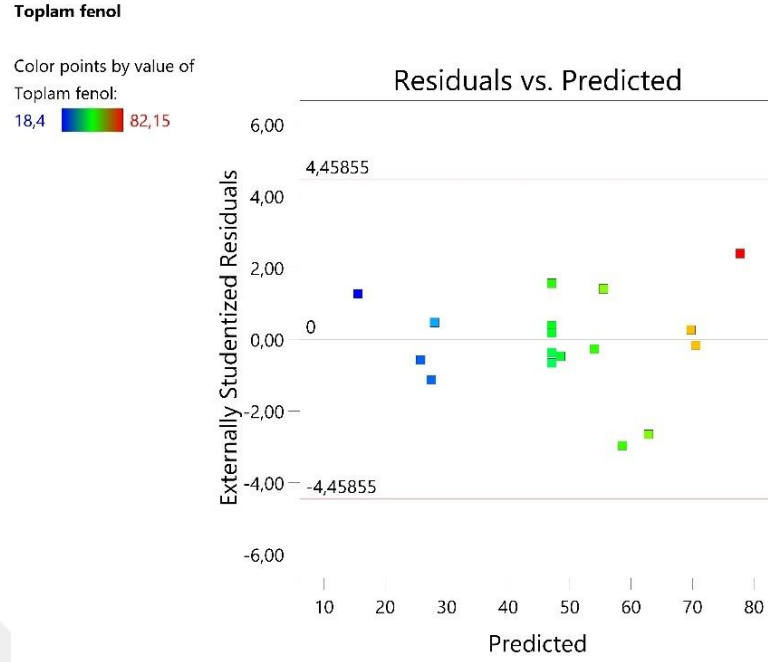
Yapılan ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi sonucunda toplam fenol kapasitesi (mg GAE/g Kuru Ekstre) üzerinde etkili olan bağımsız değişkenler için kullanılan kuadratik model ile oluşturulmuş eşitlikler aşağıda kodlanmış ve gerçek değişkenler cinsinden aşağıdaki verilmiştir.

Kodlanmış bağımsız değişkenler cinsinden model denklemi için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

$$\text{Toplam fenol içeriği (mg GAE/g Kuru Ekstre)} = 47,1 + 0,6163*A - 2,14*B + 23*C + 2,89*AB - 4,48*AC - 1,88*BC + 7,07*B^2 - 3,41*C^2$$

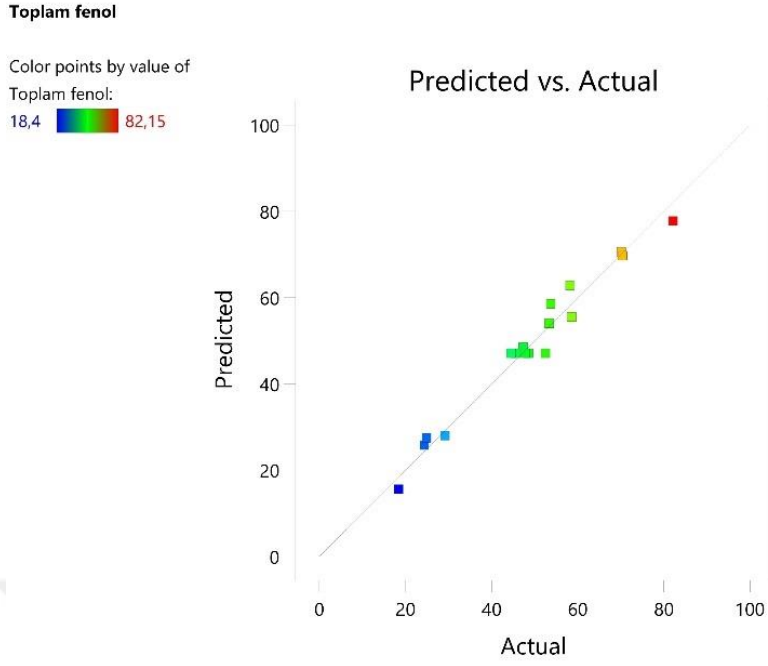
Gerçek bağımsız değişkenler cinsinden model denklemi için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

$$\begin{aligned} \text{Toplam fenol içeriği (mg GAE/g Kuru Ekstre)} = & 92,30559 - 0,447656*Zaman - \\ & 4,84927*Katı/Sıvı + 0,888324*Etanol + 0,036156*Zaman*Katı/Sıvı - \\ & 0,0112*Zaman*Etanol - 0,00375*Katı/Sıvı*Etanol + 0,070732*Katı/Sıvı^2 - \\ & 0,001366*Etanol^2 \end{aligned}$$



Şekil 4.12. Toplam fenol için artık hataya karşı model tahminleri grafiği.

Artık analizi, model uygunluğunun ve varsayımların test edilmesi için önem taşıyan bir başka parametredir. Bu amaçla, tahminlenen değerlere karşı artık grafiği Şekil 4.12’de verilmiştir. Artık hata modeli beklenen ve tahmin edilen arasındaki farktır. Bu grafikte değerlerin 0 çizgisi çevresinde bir bant oluşturması beklenir. Grafikte tek bir uç değer bulunması grafiğin uyumlu olduğunu gösterir.



Şekil 4.13.Toplam fenol için edilen değerlere karşı deneysel değerler için tahmin grafiği.

Toplam fenol kapasitesi için model denklemiyle tahmin edilen değerler ile deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Şekil 4.13'te grafikteki noktaların lineer doğruya yakın yani tahmin edilen ve deneysel değerlerin birbirine yakın, üst üste örtüşmesi istenir. Bu tasarım için gözlenen ve beklenen değerlerin lineer doğruya yakın olduğu ve birbiri ile örtüştüğü görülmektedir.

Factor Coding: Actual

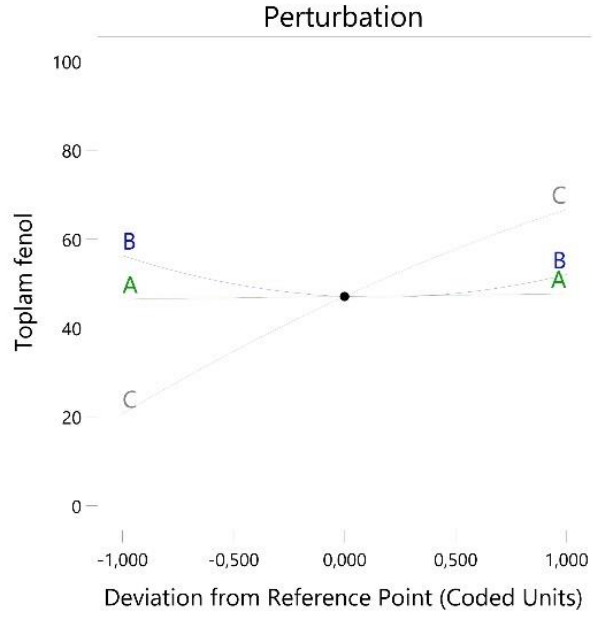
Toplam fenol

Actual Factors

A = 16

B = 30

C = 50



Şekil 4.14. Bağımsız değişkenlerin toplam fenol üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.

Şekil 4.14'te faktörler orta noktada kesişmektedir. Toplam fenol için en etkili olan faktör etanol yüzdesidir (C). Ekstraksiyon süresi (A) ve katı/sıvı oranı (A) etkilerinin büyüklüğü ve yanıt üzerindeki etkileri birbirine benzerdir.

Yapılan analizler sonucunda elde edilen model kullanılarak toplam fenolün (%) 3 boyutlu yüzey eğrileri çizilmiştir. Mevcut çalışmaya ait optimizasyon sonucunda elde edilen grafikler Şekil 4.15, Şekil 4.16 ve Şekil 4.17'de gösterilmiştir.

Factor Coding: Actual

Toplam fenol

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

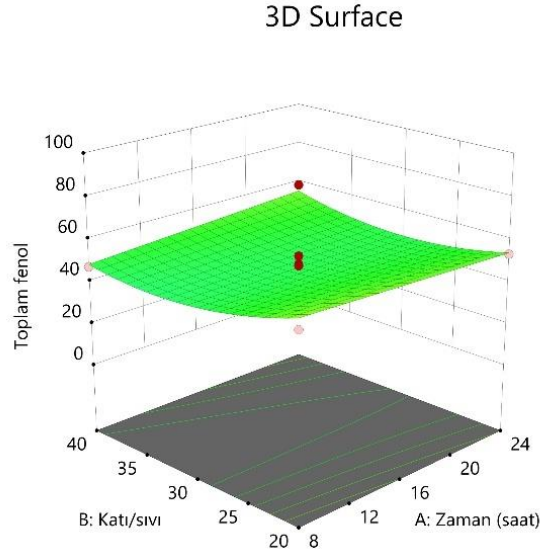
18,4  82,15

X1 = A

X2 = B

Actual Factor

C = 50



Şekil 4.15. Zaman (saat) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.

Bu grafikler, faktörlerden birinin deneysel tasarımın merkez noktasında (0) sabit tutulup, diğer iki değişkenin kombinasyonunun toplam fenol üzerindeki etkisini göstermektedir.

Factor Coding: Actual

Toplam fenol

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

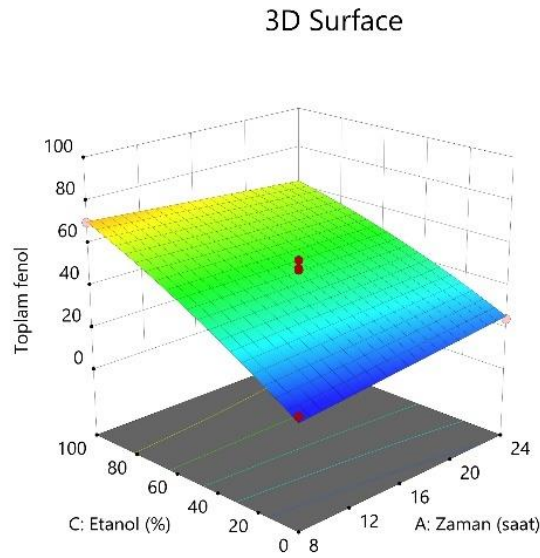
18,4  82,15

X1 = A

X2 = C

Actual Factor

B = 30



Şekil 4.16. Etanol (%) ve zaman etkileşiminin 3D grafiği.

Factor Coding: Actual

Toplam fenol

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

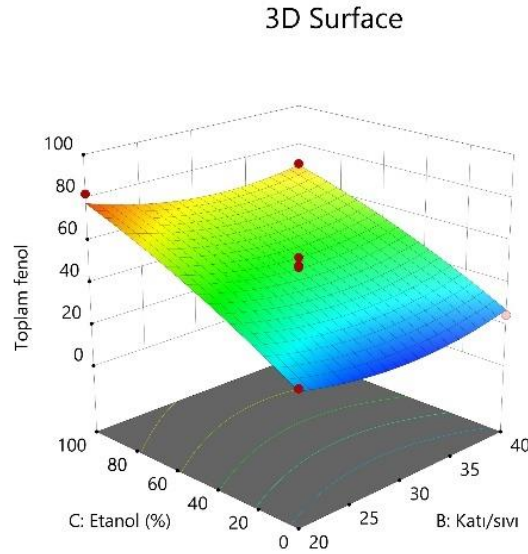
18,4  82,15

X1 = B

X2 = C

Actual Factor

A = 16



Şekil 4.17. Etanol (%) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.

Şekil 4.16 ve Şekil 4.17 incelendiğinde katı/sıvı ve zamandaki değişim benzer olsa da etanol yüzdesinin en etkili faktör olduğu görülmüştür.

4.1.4. Toplam Protein

Toplam protein miktarı BSA eşdeğeri (mg/g kuru ekstre) olarak hesaplanan ölçülmüştür. En yüksek protein içeriğinin 106,88 mg BSA/g kuru ekstre ile %100 etanol, 1/30 katı-sıvı oranı ve 24 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edildiği görülmüştür. En düşük protein içeriği ise 49,2 mg BSA/g kuru ekstre ile %50 etanol, 1/40 katı-sıvı oranı ve 8 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edilmiştir. *Ulva* sp.'nin dünya çapında farkı bölgelerden toplanan örneklerinin protein içeriği kuru ağırlığının %7-33 arasında olduğu raporlanmıştır (Garcia-Vaquero vd., 2019). Bu protein seviyeleri ile *Ulva* sp. umut verici bir biyokütledir. Literatüre bakıldığında *Ulva*'nın ekstrakte edilebilir protein içeriği ve protein profilinin ekstraksiyonunda kullanılan çözücü, *Ulva*'nın hangi mevsimde ve nereden toplandığına göre değişir (Costa vd., 2012; Jinzhe He vd., 2016; Postma vd., 2018; Yaich vd., 2014). *U. lactuca*'nın etanol/su oranının %70 (h/h), ekstraksiyon süresinin 3-6-12-16-24 saat, ekstraksiyon sıcaklığının 25-40-60°C ve katı/sıvı oranının 1/10-1/20-1/40 (a/h) değiştiği koşullarda ekstraktların protein içeriğinin

gravimetrik olarak belirlendiği çalışmada protein içeriği kuru ağırlığın %3,5 ile %8,4 olarak değişmiştir (Pappou vd., 2022).

Toplam protein (mg BSA/g Kuru Ekstre) için ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi sonuçları incelendiğinde, optimizasyon çalışmasında model olarak kuadratik model seçilmiştir.

Kuadratik modelde ekstraksiyon toplam protein (mg BSA/g Kuru Ekstre) cevabı için anlamlı terimler varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlenmiştir ($p < 0,05$). Optimizasyon çalışmasında belirlenen her bağımsız değişkenin yanıt üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak model açısından önemliliği ifade eden F ve p-değerleri incelenmiştir. Her bir bağımsız değişkenin ana etkileri, interaksiyonları ve ikinci dereceden ifadelerinden p değerleri 0,05' ten küçük olanların anlamlı olduğu kabul edilmiştir ve model denklemini desteklemek için anlamsız olan birkaç değer denkleme dahil edilmiştir. Model uygunsuzluğu %95 güven seviyesinde önemsiz çıktığı görülmüştür. Çizelge 4.11'de rapor edilen ANOVA 'da Model F değerleri 18,11'dir. Bu kadar büyük bir F değerinin oluşma olasılığı %0,01 olduğu için model anlamlıdır (significant). Model uygunsuzluğunun F değerleri 2,20'dir, böyle bir uyum eksikliğinin meydana gelme olasılığı %23,26'dır. Tek tek faktörlerin etkisine bakılıp incelendiğinde anlamlı olan ifadelere göre sadeleştirilen model denklemini model uygunsuzluğu değerinin anlamsız çıkması ile kullanılabilir.

Çizelge 4.11. Toplam protein (mg BSA/g Kuru Ekstre) için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi

ANOVA for Reduced Quadratic model						
Response 4: Toplam protein						
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi (df)	Kareler ortalaması	F-değeri	p-değeri	
Model	4794,75	7	684,96	18,11	0,0001	significant
A-Zaman	1384,70	1	1384,70	36,60	0,0002	
B-Katı/sıvı	51,47	1	51,47	1,36	0,2734	
C-Etanol	329,45	1	329,45	8,71	0,0162	
AC	188,79	1	188,79	4,99	0,0524	
BC	1424,99	1	1424,99	37,67	0,0002	
A ²	322,56	1	322,56	8,53	0,0170	
C ²	1024,56	1	1024,56	27,08	0,0006	
Artık (Hata)	340,47	9	37,83			
Model uyumsuzluğu	249,64	5	49,93	2,20	0,2326	not significant
Saf Hata	90,83	4	22,71			
Toplam	5135,22	16				

Optimizasyon çalışmasında seçilen model için R^2 değeri 0,9337, Adj- R^2 değeri ise 0,8821'dir. R^2 değerinin 1'e yakın olması beklenmektedir. Bu yanıt için R^2 değeri sınırlar içerisindedir. Pred- R^2 ve Adj- R^2 değerlerinin arasındaki farkın 0,2'den küçük olması istenir, toplam protein (mg BSA/g Kuru Ekstre) yanıtı için bu değerlerin farkının 0,2'den küçük olduğu görülmektedir. Bu da modelin istatistiksel olarak anlamlı ve önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir. Mevcut modelin kullanılması için "Adeq Precision" değerinin 4'ten büyük olmalıdır. Mevcut seçilen modelde bu değer 14,9344'dir (Çizelge 4.12). Bu tasarımdan elde edilen model denklemini tasarım sınırları içindeki tüm bağımsız değişken değerleri için yanıt değeri olan Toplam protein içeriği (mg BSA/g Kuru Ekstre) hakkında tahminde bulunmak için kullanılabilir.

Çizelge 4.12. Toplam protein (mg BSA/g kuru ekstre) için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan değerler

Standart sapma	6,15	R ²	0,9337
Ortalama	73,69	Adj-R ²	0,8821
C.V. %	8,35	Pred-R ²	0,6877
Adeq Precision			14,9344

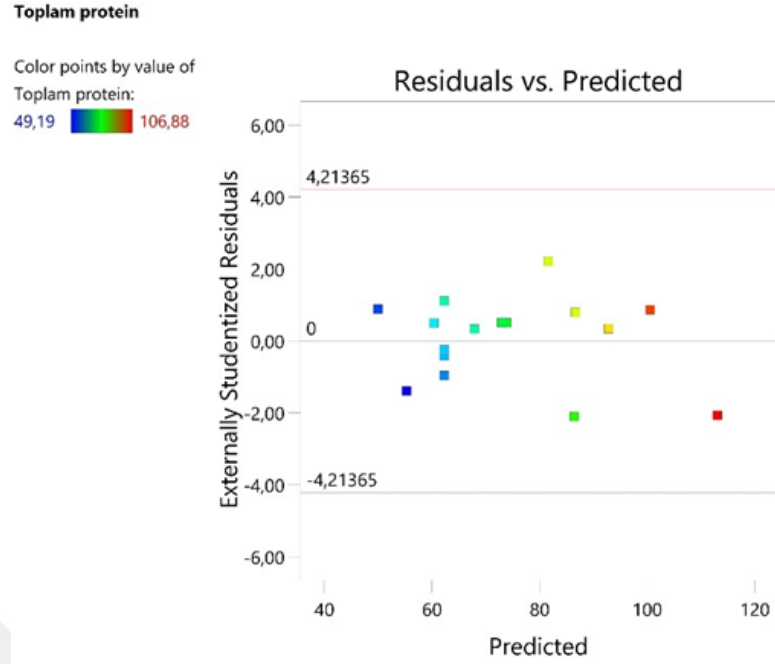
Yapılan ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi sonucunda Toplam protein içeriği (mg BSA/g Kuru Ekstre) üzerinde etkili olan bağımsız değişkenler için kullanılan kuadratik model ile oluşturulmuş eşitlikler aşağıda kodlanmış ve gerçek değişkenler cinsinden aşağıdaki verilmiştir.

Kodlanmış bağımsız değişkenler cinsinden model denklemi için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

$$\text{Toplam protein içeriği (mg BSA/g Kuru Ekstre)} = 62,24 + 13,16*A - 2,54*B + 6,42*C + 6,87*AC + 18,87*BC + 8,74*A^2 + 15,58*C^2$$

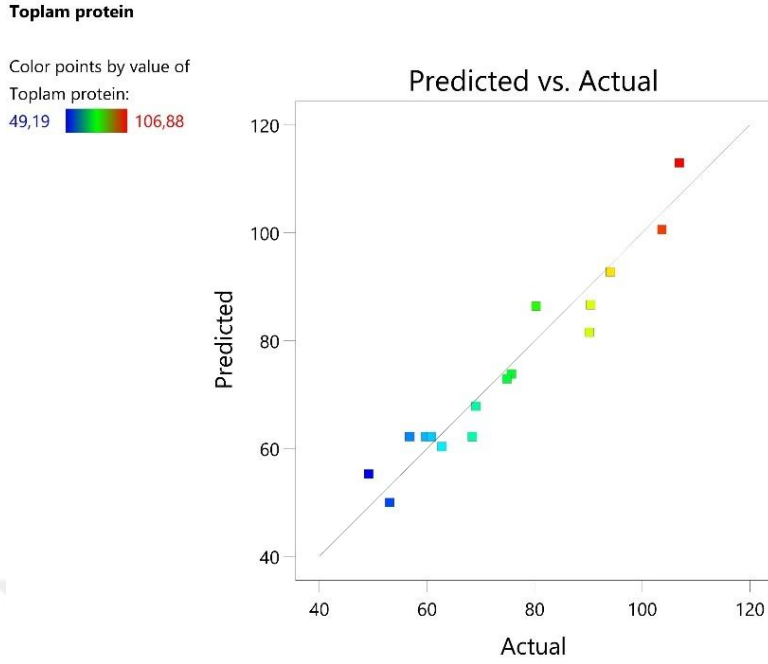
Gerçek bağımsız değişkenler cinsinden model denklemi için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

$$\text{Toplam protein içeriği (mg BSA/g Kuru Ekstre)} = 158,02475 - 3,58447*Zaman - 2,1411*Katı/Sıvı - 1,90202*Etanol + 0,017175*Zaman*Etanol + 0,037749*Katı/Sıvı*Etanol + 0,136570*Zaman^2 + 0,006231*Etanol^2$$



Şekil 4.18. Toplam protein içeriği (mg BSA/g Kuru Ekstre) için artık hataya karşı model tahminleri grafiği.

Artık analizi, model uygunluğunun ve varsayımların test edilmesi için Artık analizi, model uygunluğunun ve varsayımların test edilmesi için önem taşıyan bir başka parametredir. Bu amaçla, tahminlenen değerlere karşı artık grafiği Şekil 4.18’de verilmiştir. Artık hata modeli beklenen ve tahmin edilen arasındaki farktır. Bu grafikte değerlerin 0 çizgisi çevresinde bir bant oluşturması beklenir. Grafikte tek bir uç değer bulunması grafiğin uyumlu olduğunu gösterir.



Şekil 4.19. Toplam protein içeriği (mg BSA/g Kuru Ekstre) için edilen değerlere karşı deneysel değerler için tahmin grafiği.

Toplam protein içeriği için model denklemleri ile tahminlenen değerler ile deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil 4.19'da gösterilmiştir. Şekil 4.19'da grafikteki tahmin edilen ve deneysel değerlerin birbirine yakın, üst üste örtüşmesi istenir. Bu tasarım için gözlenen ve beklenen değerlerin birkaç değer hariç lineer doğruya yakın olduğu ve birbiriyle örtüştüğü görülmüştür.

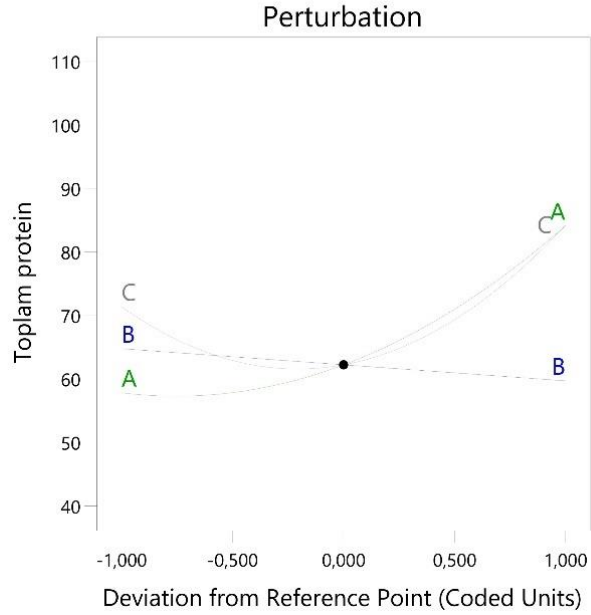
Factor Coding: Actual

Toplam protein**Actual Factors**

A = 16

B = 30

C = 50



Şekil 4.20. Bağımsız değişkenlerin toplam protein içeriği üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.

Şekil 4.20’de faktörler orta noktada kesişmektedir. Toplam protein içeriği (mg BSA/g Kuru Ekstre) için en etkili olan faktörler etanol yüzdesi (C) ve ekstraksiyon süresi (A)’dir. Katı/sıvı oranının (B) artmasının yanıt üzerindeki etkisi olumsuzdur.

Yapılan analizler sonucunda elde edilen model kullanılarak toplam protein içeriği (mg BSA/g Kuru Ekstre) 3 boyutlu yüzey eğrileri çizilmiştir. Mevcut çalışmaya ait optimizasyon sonucunda elde edilen grafikler Şekil 4.21, Şekil 4.22 ve Şekil 4.23’de gösterilmiştir. Bu grafikler, faktörlerden birinin deneysel tasarımın merkez noktasında (0) sabit tutulup, diğer iki değişkenin kombinasyonunun toplam protein içeriği (mg BSA/g Kuru Ekstre) üzerindeki etkisini göstermektedir. Şekil 4.21 incelendiğinde katı/sıvı oranının en düşük ve etanol (%)’nin maksimum olduğu noktada toplam protein içeriği (mg BSA/g Kuru Ekstre) en yüksek değere ulaşmıştır.

Factor Coding: Actual

Toplam protein

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

49,19  106,88

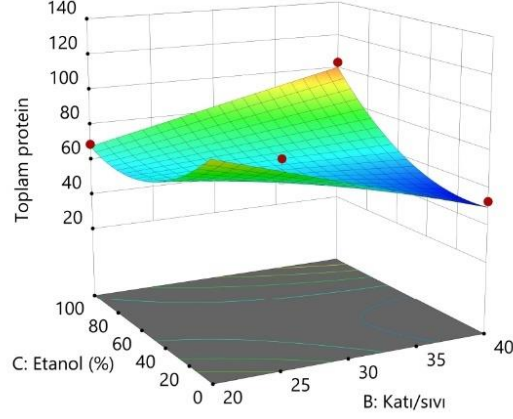
X1 = B

X2 = C

Actual Factor

A = 16

3D Surface



Şekil 4.21. Etanol (%) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.

Şekil 4.22 incelendiğinde katı/sıvı oranının toplam protein içeriği üzerinde neredeyse etkisiz olduğu görülmektedir. Buna karşılık ekstraksiyon süresi arttıkça protein miktarı artmıştır.

Factor Coding: Actual

Toplam protein

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

49,19  106,88

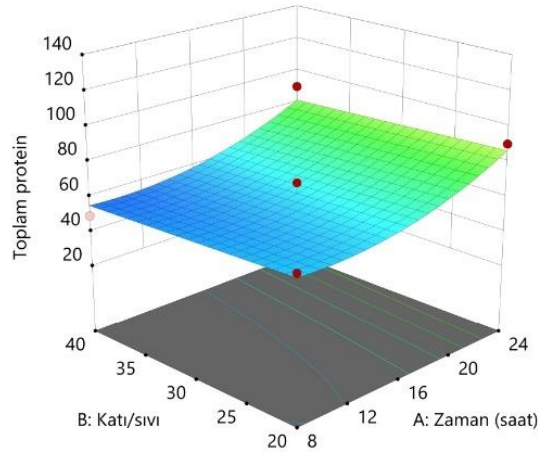
X1 = A

X2 = B

Actual Factor

C = 50

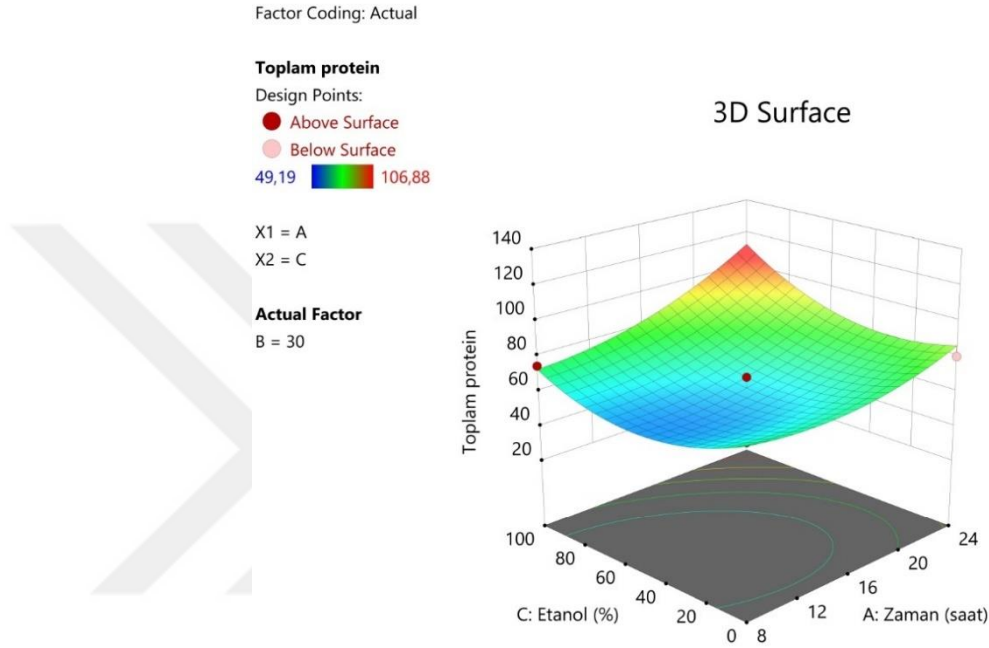
3D Surface



Şekil 4.22. Zaman (saat) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.

Şekil 4.23 incelendiğinde ise ekstraksiyon süresi ve etanol (%) oranının maksimum olduğunda yine toplam protein içeriği (mg BSA/g Kuru Ekstre) en

yüksek değere ulaşmıştır. Literatürde protein ekstraksiyonu için yapılan çalışmalarda çözücü olarak genellikle su kullanılmasına rağmen ekstraksiyonda etanol oranının artmasıyla ekstraksiyon içeriğinin arttığı görülmektedir. Aslında burada en etkili faktör ekstraksiyon süresi olduğu için etanol yüzdesine bağlı olarak değil ekstraksiyon süresine bağlı olarak protein oranının arttığı düşünülmektedir.



Şekil 4.23. Etanol (%) ve zaman etkileşiminin 3D grafiği.

4.1.5. Toplam Antioksidan Kapasite

Toplam antioksidan kapasite Trolox eşdeğeri (mg/g kuru ekstre) olarak hesaplanan ölçülmüştür. En yüksek antioksidan kapasite 63,6 mg Trolox/g kuru ekstre ile %100 su, 1/20 katı-sıvı oranı ve 16 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edildiği görülmüştür. En düşük antioksidan kapasite ise 28,2 mg Trolox /g kuru ekstre ile %100 etanol, 1/30 katı-sıvı oranı ve 8 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edilmiştir. Literatüre bakıldığında *U. lactuca*'nın su ile homojenize edilmiş ekstraktlarında antioksidan kapasite 89,77 µg TE/g kuru ekstre olarak bulunmuştur (Vaghela vd., 2023). *U. rigida* için yapılan başka bir çalışmada ise %80 etanol ve %50 etanol içeren çözücülerin antioksidan kapasiteleri incelenmiştir, sırasıyla $3,53 \pm 0,30$ ve $1,37 \pm 0,13$ µmol Trolox/g kuru ekstre olarak bulunmuştur (Monteiro vd.,

2020). Literatürdeki farklı çalışmalar *Ulva sp.*'nin antioksidan etkilerini göstermiştir. Le vd., (2019) yaptığı çalışmada ise ulvan polisakkaritlerinin antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Bu çalışmada polisakkarit konsantrasyonu 0,025'ten 0,800 mg/mL'ye çıkarıldığında, ulvan polisakkaritlerinin ABTS radikallinin inhibisyonu %5,61'den %46,51'e yükselmiştir.

Toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre) için ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi sonuçları incelendiğinde, optimizasyon çalışmasında model olarak kuadratik model seçilmiştir.

Kuadratik modelde ekstraksiyon toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre) cevabı için anlamlı terimler varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlenmiştir ($p < 0,05$). Optimizasyon çalışmasında belirlenen her bağımsız değişkenin yanıt üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak model açısından önemliliği ifade eden F ve p-değerleri incelenmiştir. Her bir bağımsız değişkenin ana etkileri, interaksiyonları ve ikinci dereceden ifadelerinden p değeri 0,05' ten küçük olanların anlamlı olduğu kabul edilmiştir, model uygunsuzluğu ise %95 güven seviyesinde önemsiz çıktığı görülmüştür. Çizelge 4.13'te rapor edilen ANOVA 'da Model F değeri 13,92'dir. Bu kadar büyük bir F değerinin oluşma olasılığı %0,01 olduğu için model önemlidir (significant). Model uygunsuzluğunun F değeri 0,883'tür, böyle büyük bir uyum eksikliğinin meydana gelme olasılığı %54,63'tür. Tek tek faktörlerin etkisine bakılıp incelendiğinde anlamlı olan ifadelere göre sadeleştirilen model denklemi model uygunsuzluğu değerinin anlamsız çıkması ile kullanılabilir.

Çizelge 4.13. Toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre) için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi

ANOVA for Reduced Quadratic model						
Response 5: Antioksidan						
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi (df)	Kareler ortalaması	F-değeri	p-değeri	
Model	1194,04	8	149,25	13,92	0,0006	significant
A-Zaman	221,24	1	221,24	20,63	0,0019	
B-Katı/sıvı	162,27	1	162,27	15,13	0,0046	
C-Etanol	553,11	1	553,11	51,58	< 0.0001	
AC	5,59	1	5,59	0,5216	0,4907	
BC	23,47	1	23,47	2,19	0,1773	
A ²	98,96	1	98,96	9,23	0,0161	
B ²	119,71	1	119,71	11,16	0,0102	
C ²	20,95	1	20,95	1,95	0,1997	
Artık (Hata)	85,79	8	10,72			
Model uyumsuzluğu	40,24	4	10,06	0,8835	0,5463	not significant
Saf Hata	45,55	4	11,39			

Optimizasyon çalışmasında seçilen model için R^2 değeri 0,9330, Adj- R^2 değeri ise 0,8659'dur. R^2 değerinin 1'e yakın olması beklenmektedir. Bu yanıt için R^2 değeri sınırlar içerisindedir. Pred- R^2 ve Adj- R^2 değerlerinin arasındaki farkın 0,2'den küçük olması istenir. Toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre) yanıtı için bu değerlerin farkının 0,2'den küçük olduğu görülmektedir. Bu da modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. Model denkleminin tahminleme modeli olarak kullanılması için "Adeq Precision" değerinin 4'ten büyük olması gerekmektedir. Seçilen modelde bu değer 13,8365'tir (Çizelge 4. 14). Bu tasarımdan elde edilen model denklemini tasarım sınırları içindeki tüm bağımsız değişken değerleri için yanıt değeri olan toplam antioksidan kapasite hakkında tahminde bulunmak için kullanılabilir.

Çizelge 4. 14. Toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre) için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler

Standart sapma	3,27	R ²	0,9330
Ortalama	47,36	Adj-R ²	0,8659
C.V. %	6,91	Pred-R ²	0,6606
Adeq Precision			13,8365

Yapılan ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi sonucunda Toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre) üzerinde etkili olan bağımsız değişkenler için kullanılan kuadratik model ile oluşturulmuş eşitlikler aşağıda kodlanmış ve gerçek değişkenler cinsinden aşağıdaki verilmiştir.

Kodlanmış bağımsız değişkenler cinsinden model denklemini için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

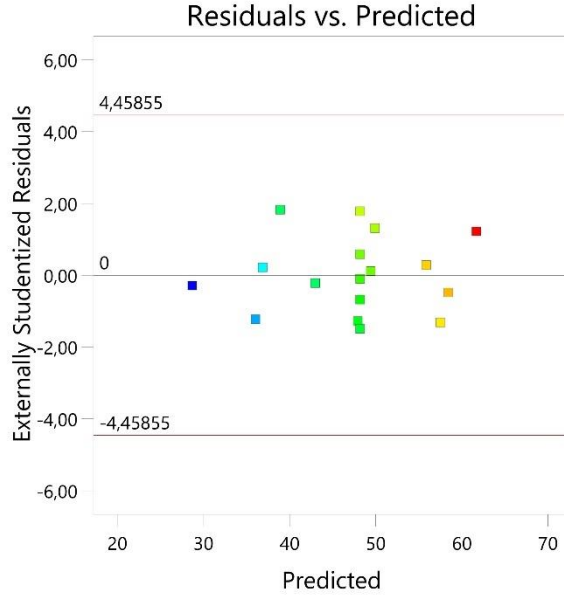
$$\text{Toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre)} = 48,19 + 5,26*A - 4,5*B - 8,32*C - 4,85*A^2 + 5,33*B^2 - 2,23*C^2$$

Gerçek bağımsız değişkenler cinsinden model denklemini için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

$$\text{Toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre)} = 85,86025 - 3,08134*Zaman - 3,64957*Katı/Sıvı - 0,07708*Etanol - 0,075750* Zaman^2 + 0,05332* Katı/Sıvı^2 - 0,006231* Etanol^2$$

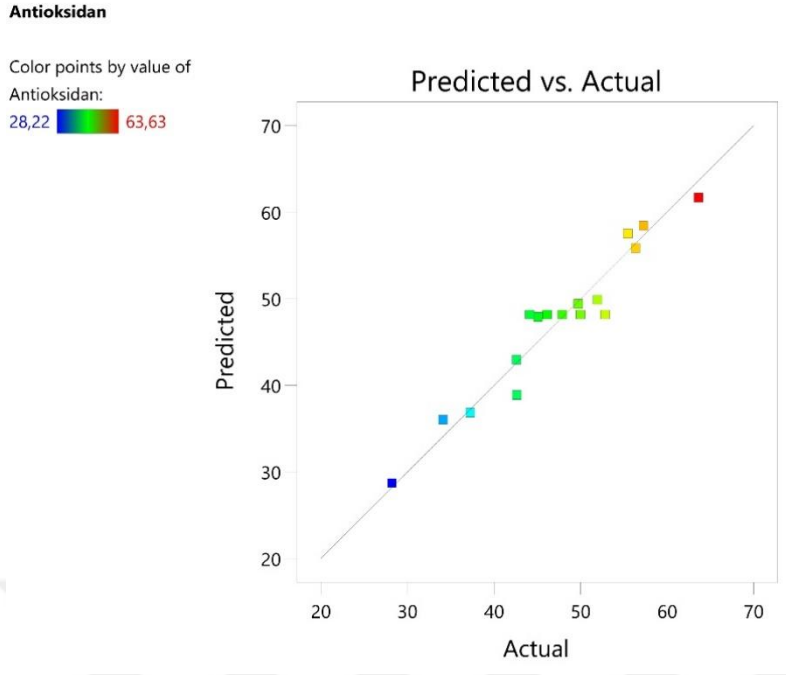
Antioksidan

Color points by value of
Antioksidan:
28,22  63,63



Şekil 4.24. Toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre) için artık hataya karşı model tahminleri grafiği.

Artık analizi, model uygunluğunun ve varsayımların test edilmesi için önem taşıyan bir başka parametredir. Bu amaçla, tahminlenen değerlere karşı artık grafiği Şekil 4.24'te verilmiştir. Artık hata modeli beklenen ve tahmin edilen arasındaki farktır. Bu grafikte değerlerin 0 çizgisi çevresinde bir bant oluşturması beklenir. Grafikte uç değer bulunmaması grafiğin uyumlu olduğunu gösterir.



Şekil 4.25. Toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre) için edilen değerlere karşı deneysel değerler için beklenen değerler grafiği.

Toplam antioksidan içeriği için model denklemi ile tahminlenen değerler ile deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil 4.25'te gösterilmiştir. Şekil 4.25'te grafikteki noktaların lineer doğruya yakın yani beklenen ve gözlenen değerlerin birbirine yakın, üst üste örtüşmesi istenir. Bu tasarım için deneysel ve tahminlenen değerlerin birkaç değer hariç birbiriyle örtüştüğü görülmektedir.

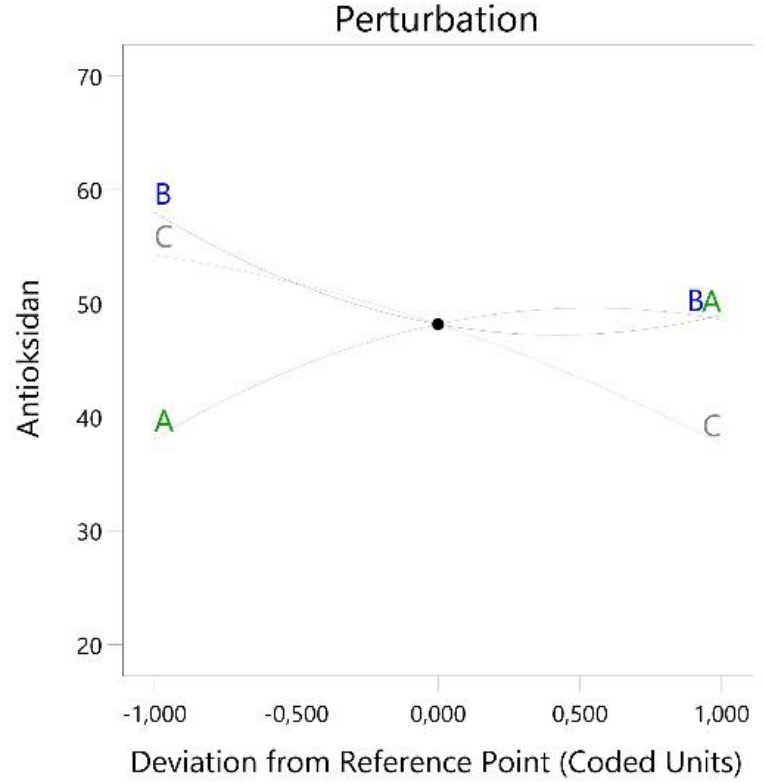
Factor Coding: Actual

Antioksidan**Actual Factors**

A = 16

B = 30

C = 50

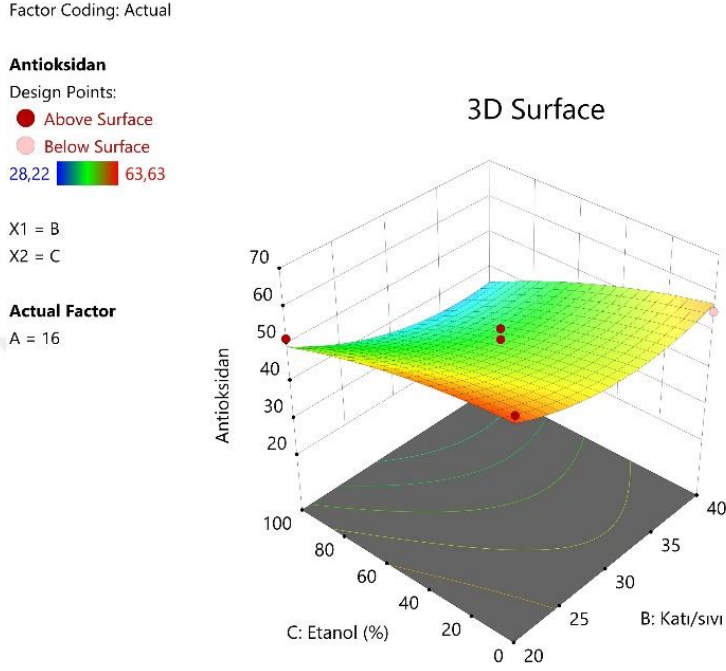


Şekil 4.26. Bağımsız değişkenlerin toplam antioksidan içeriği üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.

Şekil 4.26’da faktörler orta noktada kesişmektedir. Toplam antioksidan içeriği için en etkili olan faktör etanol yüzdesidir (C). Ekstraksiyon süresi (A) ve katı/sıvı oranı (B) etkilerinin büyüklüğü ve yanıt üzerindeki etkilerinin büyüklüğü birbirine benzer şiddette ve zıttır.

Yapılan analizler sonucunda elde edilen model kullanılarak toplam antioksidan içeriği (mg Trolox/g Kuru Ekstre) 3 boyutlu yüzey eğrileri çizilmiştir. Mevcut çalışmaya ait optimizasyon sonucunda elde edilen grafikler Şekil 4.27, Şekil 4.28 ve Şekil 4.29’da gösterilmiştir. Bu grafikler, faktörlerden birinin deneysel dizaynın merkez noktasında (0) sabit tutulup, diğer iki değişkenin kombinasyonunun verim üzerindeki etkisini göstermektedir. Şekil 4.27’de etanol yüzdesinin ve katı/sıvı oranının minimum olduğu noktada toplam antioksidan içeriğinin maksimum olduğu görülmüştür. Bu noktada etanol yüzdesi azalarak

antioksidan kapasite artmıştır ve aynı zamanda ortamdaki polisakkarit miktarda artış göstermiştir. Ortamdaki polisakkarit miktarının artmasının antioksidan kapasitesini olumlu yönde etkilediği ve polisakkaritlerin antioksidan etkisi olduğu düşünülmüştür (Le vd., 2019).



Şekil 4.27. Etanol (%) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.

Şekil 4.28’de ise etanol yüzdesinin azalmasına rağmen ekstraksiyon süresinin maksimum olmasıyla toplam antioksidan içeriğinin olumlu etkilendiği belirlenmiştir.

Factor Coding: Actual

Antioksidan

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

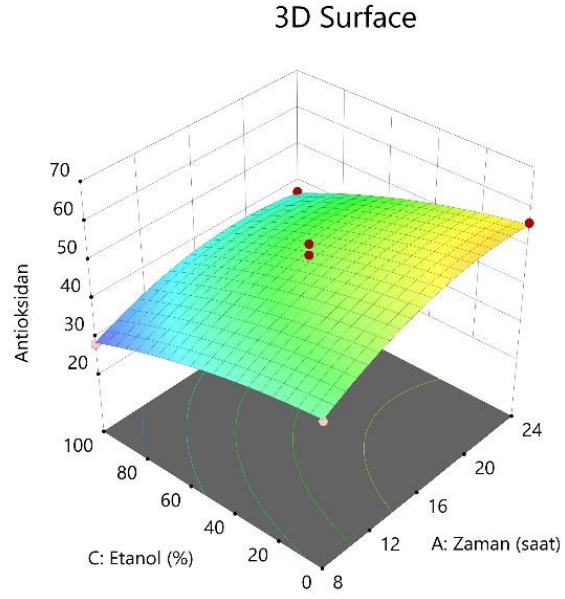
28,22  63,63

X1 = A

X2 = C

Actual Factor

B = 30



Şekil 4.28. Etanol (%) ve zaman etkileşiminin 3D grafiği.

Şekil 4.29'da incelendiğinde katı/sıvı oranının azalmasının ve zamanın artmasının toplam antioksidan içeriğini artırdığı görülmüştür.

Factor Coding: Actual

Antioksidan

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

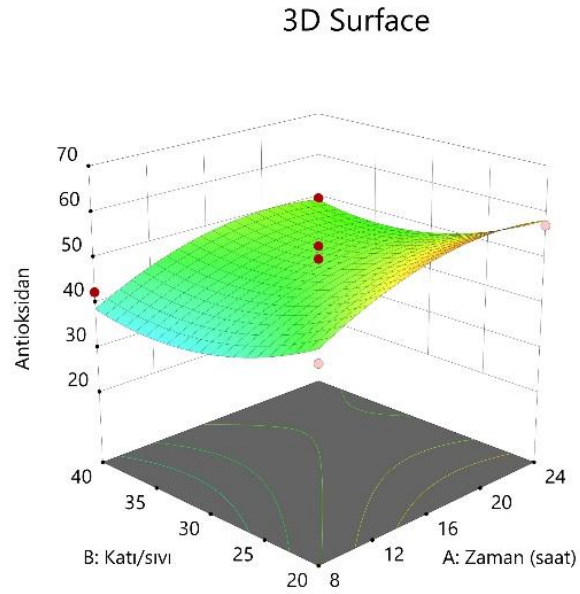
28,22  63,63

X1 = A

X2 = B

Actual Factor

C = 50



Şekil 4.29. Zaman (saat) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.

4.1.5. Alfa-Glukozidaz Enzimi İnhibitör Etki

Alfa-glukozidaz enzim inhibisyonu testlerinin sonuçları IC50 olarak hesaplanmıştır. En yüksek alfa-glukozidaz aktivite %50 etanol, 1/40 katı-sıvı oranı ve 8 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edilmiş olup IC50 değeri 0,17 mg/ml olmuştur. En düşük aktivite ise %50 etanol, 1/30 katı-sıvı oranı ve 16 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edilmiştir. Bu ekstraktın IC50 değeri 1,67 mg/ml olarak ölçülmüştür. Nazarudin vd.(2020) yaptığı çalışmada *Ulva intestinalis* 'in 1/20 (a/h) metanol ekstraksiyonundan elde edilen ekstraktların alfa-glukozidaz enzimi inhibitör etki için IC50 değeri 0.2 mg/ml bulmuşlardır (Nazarudin vd., 2020). *Ulva sp.* 'nin %70 aseton ile yapılan farklı ekstraksiyonlarının alfa-glukozidaz enzimi için IC50 değeri 0,408 -0,597 mg/ml aralığında bulunmuştur (Vega-Gálvez vd., 2022). *U. rigida*'nın 1/20 oranında 4 farklı çözücü ile (oda sıcaklığında 24 saat deiyonize su; 90 °C'de 30 dakika deiyonize su; oda sıcaklığında 24 saat boyunca %80 (h/h) etanol; oda sıcaklığında 24 saat boyunca %70 (h/h) aseton) ekstraksiyonu sonundaki ekstraktlarının alfa-glukozidaz enzimi üzerine inhibe edici özelliği tespit edilememiştir (Neto vd., 2018). Yapılan çalışmanın mevcut literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Alfa-glukozidaz inhibitör aktivite (mg/ml) için ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi sonuçları incelendiğinde, optimizasyon çalışmasında model olarak kuadratik model seçilmiştir. Kuadratik modelde ekstraksiyon alfa-glukozidaz inhibitör aktivite (mg/ml) cevabı için anlamlı terimler varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlenmiştir (p<0,05). Optimizasyon çalışmasında belirlenen her bağımsız değişkenin yanıt üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak model açısından önemliliği ifade eden F ve p-değerleri incelenmiştir. Her bir bağımsız değişkenin ana etkileri, interaksiyonları ve ikinci dereceden ifadelerinden p değeri 0,05' ten küçük olanların anlamlı olduğu kabul edilmiştir, model uygunsuzluğu ise %95 güven seviyesinde anlamsız çıktığı görülmüştür. Çizelge 4.15'de rapor edilen ANOVA 'da Model F değeri 9,09'dur. Bu F değerinin oluşma olasılığı %0,01 olduğu için model önemlidir (significant). Model uygunsuzluğunun F değeri 0,3348'dir, böyle büyük bir uyum eksikliğinin meydana gelme olasılığı %80,23'tür. Tek tek faktörlerin etkisine bakılıp

incelendiğinde anlamlı olan ifadelerle göre sadeleştirilen model denklemi model uygunsuzluğu değerinin anlamsız çıkması ile kullanılabilir.

Çizelge 4.15. Alfa-glukozidaz inhibitör aktivite için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi

ANOVA for Quadratic model						
Response 6: Alfa-glukozidaz Enzim İnhibisyonu						
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi (df)	Kareler ortalaması	F-değeri	p-değeri	
Model	2,93	9	0,3261	9,09	0,0041	significant
A-Zaman	0,3570	1	0,3570	9,95	0,0161	
B-Katı/sıvı	0,2701	1	0,2701	7,53	0,0288	
C-Etanol	0,3698	1	0,3698	10,30	0,0149	
AB	0,0072	1	0,0072	0,2013	0,6672	
AC	0,1369	1	0,1369	3,81	0,0918	
BC	0,0361	1	0,0361	1,01	0,3493	
A ²	1,21	1	1,21	33,74	0,0007	
B ²	0,4079	1	0,4079	11,37	0,0119	
C ²	0,1164	1	0,1164	3,24	0,1148	
Artık (Hata)	0,2512	7	0,0359			
Model uyumsuzluğu	0,0504	3	0,0168	0,3348	0,8023	not significant
Saf hata	0,2008	4	0,0502			
Toplam	3,19	16				

Optimizasyon çalışmasında seçilen model için R^2 değeri 0,9211, $Adj-R^2$ değeri ise 0,8198'dir. R^2 değerinin 1'e yakın olması beklenmektedir. Bu yanıt için R^2 değeri sınırlar içerisinde. $Pred-R^2$ ve $Adj-R^2$ değerlerinin arasındaki farkın 0,2'den küçük olması istenir. Alfa-glukozidaz inhibitör aktivite (mg/ml) yanıtı için bu değerlerin farkının 0,2'den küçük olduğu görülmektedir. Bu da modelin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir. Model denkleminin bir tahminleme modeli olarak kullanılması için "Adeq Precision"

değerinin 4'ten büyük olması gerekmektedir. Mevcut seçilen modelde bu değer 9,9193'tür (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Alfa-glukozidaz inhibitör aktivite için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler

Standart sapma	0,1894	R ²	0,9211
Ortalama	0,9694	Adj- R ²	0,8198
C.V. %	19,54	Pred-R ²	0,6483
Adeq Precision			9,9193

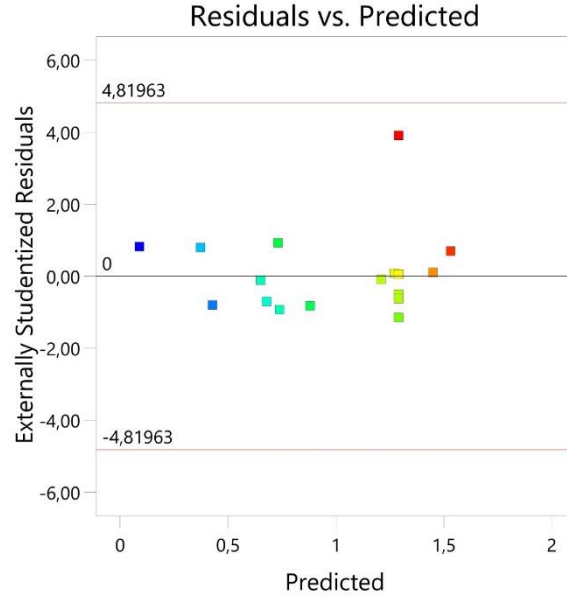
Yapılan ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi sonucunda alfa-glukozidaz inhibitör aktivite (mg/ml) üzerinde etkili olan bağımsız değişkenler için kullanılan kuadratik model ile oluşturulmuş eşitlikler aşağıda kodlanmış ve gerçek değişkenler cinsinden aşağıdaki verilmiştir.

Kodlanmış bağımsız değişkenler cinsinden model denklemi için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

$$\text{Alfa-glukozidaz inhibitör aktivite (mg/ml): } 1,29 + 0,2112*A - 0,1838*B - 0,215*C - 0,0425*A*B - 0,185*A*C - 0,095*B*C - 0,5363*A^2 - 0,3113*B^2 + 0,1663*C^2$$

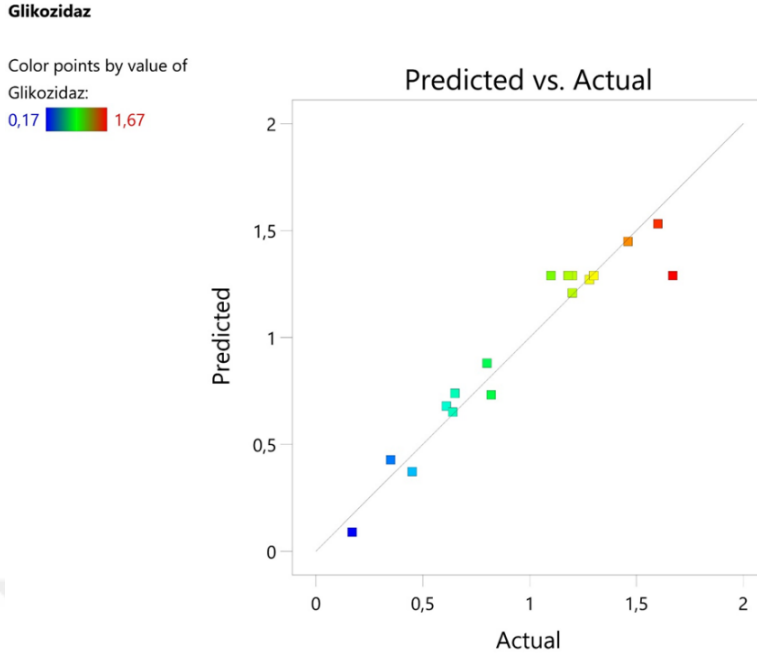
Gerçek bağımsız değişkenler cinsinden model denklemi için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

$$\text{Alfa-glukozidaz inhibitör aktivite (mg/ml): } - 4,05625 + 0,333594*Zaman + 0,186375*Katı/Sıvı + 0,00215*Etanol - 0,000531*Zaman*Katı/Sıvı - 0,000462*Zaman*Etanol - 0,00019*Katı/Sıvı*Etanol - 0,008379*Zaman^2 - 0,003113*Katı/Sıvı^2 + 0,000067*Etanol^2$$

GlikozidazColor points by value of
Glikozidaz:0,17  1,67

Şekil 4.30. Alfa-glukozidaz inhibitör aktivite (mg/ml) için artık hataya karşı model tahminleri grafiği.

Artık analizi, model uygunluğunun ve varsayımların test edilmesi için önemli bir parametredir. Bu amaçla, tahminlenen değerlere karşı artık grafik Şekil 4.30 verilmiştir. Artık hata modeli beklenen ve gözlenen arasındaki farktır. Bu grafikte değerlerin 0 çizgisi çevresinde bir bant oluşturması beklenir. Grafikte tek bir uç değer bulunması grafiğin uyumlu olduğunu gösterir.



Şekil 4.31. Alfa-glukozidaz inhibitör aktivite (mg/ml) için edilen değerlere karşı deneysel değerler için tahmin grafiği.

Alfa-glukozidaz inhibitör aktivite (mg/ml) için model denklemini ile tahminlenen değerler ile deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil 4.31’de gösterilmiştir. Şekil 4.31’de grafikteki noktaların lineer doğruya yakın yani tahminlenen ve gözlenen değerlerin birbirine yakın, üst üste örtüşmesi istenir. Bu tasarım için gözlenen ve tahminlenen değerlerin bir değer hariç birbiriyle örtüşmediği görülmektedir.

Factor Coding: Actual

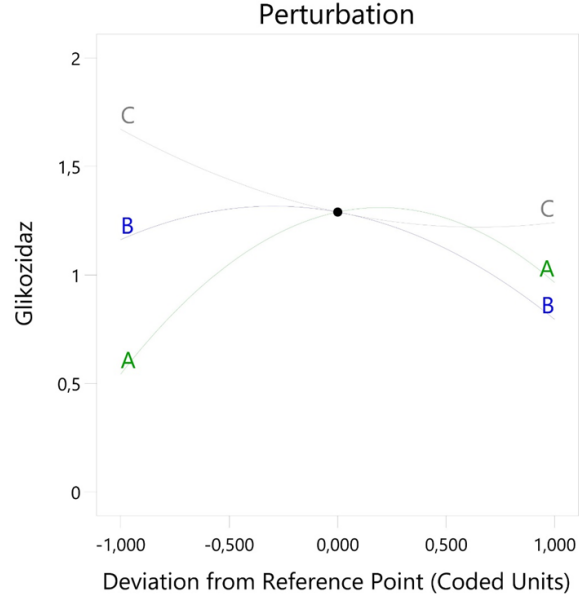
Glikozidaz

Actual Factors

A = 16

B = 30

C = 50



Şekil 4.32. Bağımsız değişkenlerin alfa-glukozidaz inhibitör aktivite üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.

Şekil 4.32’de faktörler orta noktada kesişmektedir. Alfa-glukozidaz inhibitör aktivite (mg/ml) yanıtı için değişkenlerin etkilerinin şiddeti benzerdir fakat etkileri birbirinden farklıdır.

Yapılan analizler sonucunda elde edilen model kullanılarak alfa-glukozidaz inhibitör aktivite (mg/ml) için 3 boyutlu yüzey eğrileri çizilmiştir. Mevcut çalışmaya ait optimizasyon sonucunda elde edilen grafikler Şekil 4.33, Şekil 4.34 ve Şekil 4.35’te gösterilmiştir. Bu grafikler, faktörlerden birinin deneysel tasarımın merkez noktasında (0) sabit tutulup, diğer iki değişkenin kombinasyonunun verim üzerindeki etkisini göstermektedir.

Sonuçlar programa IC50 değerine ulaşılan değer cinsinden girilmiştir. Bu nedenle alfa-glukozidaz enzimi inhibitör aktivite yanıtı minimum değer istenen sonuçtur. Şekil 4.33 incelendiğinde katı/sıvı oranının (B) ve etanol yüzdesinin (C) artması cevap değeri üzerinde olumlu etki yapmaktadır.

Factor Coding: Actual

Glikozidaz

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

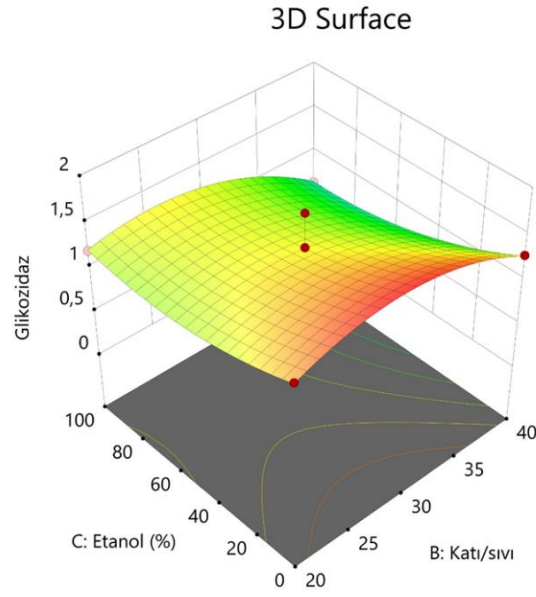
0,17 1,67

X1 = B

X2 = C

Actual Factor

A = 16



Şekil 4.33. Etanol (%) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.

Şekil 4.34'te ise zaman (A) ile etanol yüzdesinin (C) minimum olduğu noktada cevap değeri için olumlu etki görülmektedir.

Factor Coding: Actual

Glikozidaz

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

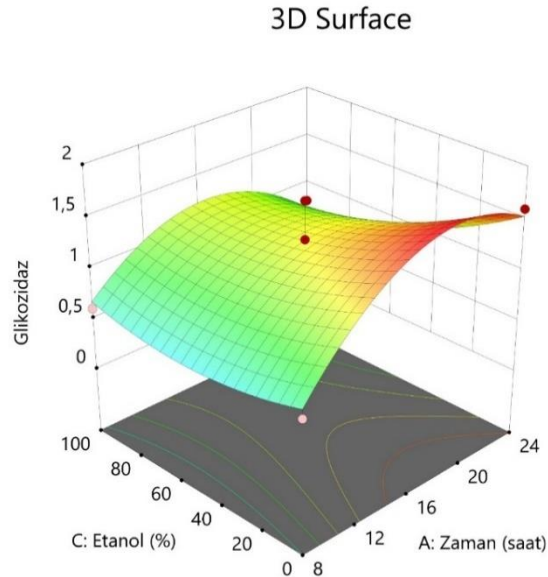
0,17 1,67

X1 = A

X2 = C

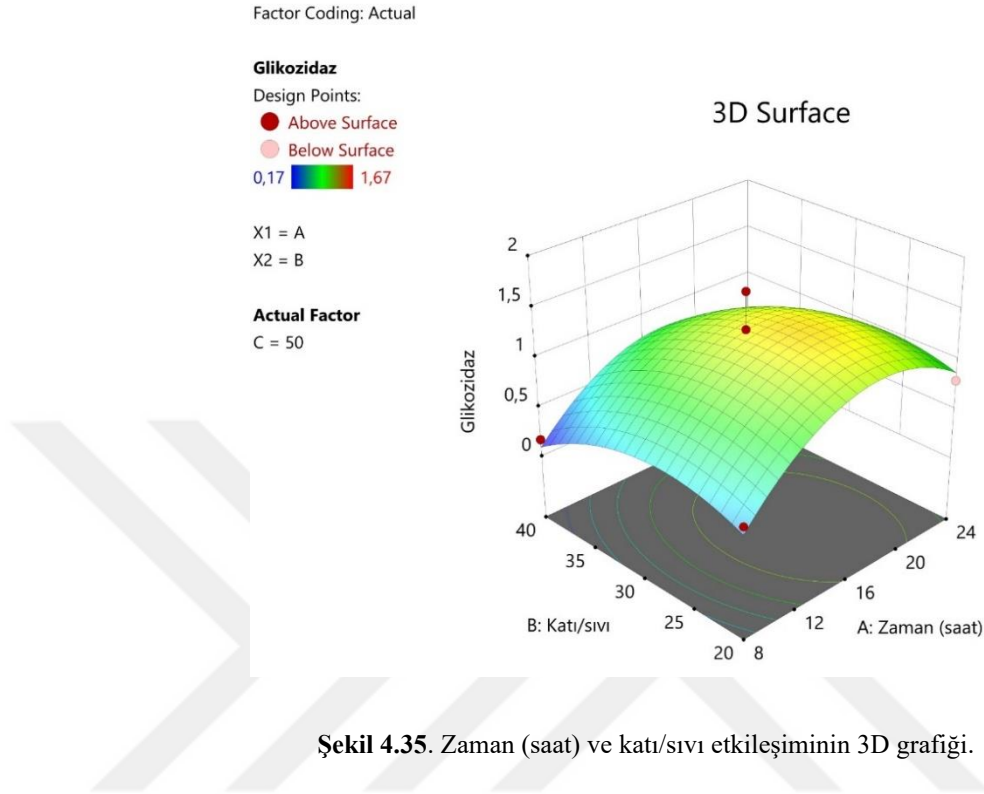
Actual Factor

B = 30



Şekil 4.34. Etanol (%) ve zaman etkileşiminin 3D grafiği.

Şekil 4.35 incelendiğinde katı/sıvı oranının arttığı ve ekstraksiyon süresinin minimum olduğu değerlerde alfa-glukozidaz enzimi inhibitör aktivite için olumlu etki yaptığı belirlenmiştir.



Şekil 4.35. Zaman (saat) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.

4.1.6. Maya Hücresi Glukoz Alım İnhibisyonu Testi

Maya hücresi glukoz alımı deneylerinde tüm ekstraktlar 10 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmıştır. Sonuçlar, ekstrakstın 10 mg/ml konsantrasyonda glukoz alımını ne kadar inhibe ettiğini ifade etmektedir. En yüksek inhibisyon %42 inhibisyon ile %50 etanol, 1/20 katı-sıvı oranı ve 24 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edilmiştir. En düşük inhibisyon ise %12,47 ile %100 etanol, 1/40 katı-sıvı oranı ve 16 saatlik ekstraksiyon koşullarında elde edilmiştir.

Maya hücresi glukoz alım inhibisyonu testi için ardışık model kareler toplama ve model uygunsuzluğu testi sonuçları incelendiğinde, optimizasyon çalışmasında model olarak kuadratik model seçilmiştir.

Kuadratik modelde Maya hücresi glukoz alım inhibisyonu testi için anlamlı terimler varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Optimizasyon çalışmasında belirlenen her bağımsız değişkenin yanıt üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak model açısından önemliliği ifade eden F ve p-değerleri incelenmiştir. Her bir bağımsız değişkenin ana etkileri, interaksiyonları ve ikinci dereceden ifadelerinden p değeri 0,05' ten küçük olanların anlamlı olduğu kabul edilmiştir, model uygunsuzluğu ise %95 güven seviyesinde anlamsız çıktığı görülmüştür. Çizelge 4.17'de rapor edilen ANOVA 'da Model F değeri 45,93'tür. Bu kadar büyük bir F değerinin oluşma olasılığı %0,01 olduğu için model önemlidir (significant). Model uygunsuzluğunun F değeri 1,06'dır, böyle büyük bir uyum eksikliğinin meydana gelme olasılığı %45,84'tür. Tek tek faktörlerin etkisine bakılıp incelendiğinde anlamlı olan ifadelerle göre sadeleştirilen model denklemi model uygunsuzluğu değerinin anlamsız çıkması ile kullanılabilir.

Çizelge 4.17. Maya hücresi glukoz alım testi için indirgenmiş kuadratik model için ANOVA çizelgesi

ANOVA for Quadratic model						
Response 7: Maya Hücresi Glukoz Alımı						
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi (df)	Kareler ortalaması	F-değeri	p-değeri	
Model	1410,83	9	156,76	45,93	< 0.0001	significant
A-Zaman	56,02	1	56,02	16,42	0,0049	
B-Katı/sıvı	268,42	1	268,42	78,65	< 0.0001	
C-Etanol	472,01	1	472,01	138,31	< 0.0001	
AB	117,40	1	117,40	34,40	0,0006	
AC	20,25	1	20,25	5,93	0,0450	
BC	16,12	1	16,12	4,72	0,0663	
A ²	17,08	1	17,08	5,00	0,0603	
B ²	172,81	1	172,81	50,64	0,0002	
C ²	232,69	1	232,69	68,18	< 0.0001	
Artık (Hata)	23,89	7	3,41			
Model uygunsuzluğu	10,59	3	3,53	1,06	0,4584	not significant
Saf Hata	13,30	4	3,32			
Toplam	1434,71	16				

Çizelge 4.18. Maya hücresi glukoz alım testi için model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan değerler

Standart Sapma	1,85	R ²	0,9833
Ortalama	29,67	Adj- R ²	0,9619
C.V. %	6,23	Pred- R ²	0,8674
Adeq Precision			21,6977

Optimizasyon çalışmasında seçilen model için R² değeri 0,9833, Adj-R² değeri ise 0,9619'dur. R² değerinin 1'e yakın olması beklenmektedir. Bu yanıt için R² değeri sınırlar içerisindedir. Pred-R² ve Adj-R² değerlerinin arasındaki farkın 0,2'den küçük olması istenir, Maya hücresi glukoz alım testi yanıtı için bu değerlerin farkının 0,2'den küçük olduğu görülmektedir. Bu da modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. Mevcut model denkleminin tahminleme yapılırken kullanılmasında dikkat edilecek bir diğer değer "Adeq Precision" değerinin 4'ten büyük olması gerekmektedir. Seçilen modelde bu değer 21,6977'dir (Çizelge 4.18).

Yapılan ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi sonucunda Maya hücresi glukoz alım inhibitör aktivite (10 mg/ml) üzerinde etkili olan bağımsız değişkenler için kullanılan kuadratik model ile oluşturulmuş eşitlikler aşağıda kodlanmış ve gerçek değişkenler cinsinden aşağıdaki verilmiştir.

Kodlanmış bağımsız değişkenler cinsinden model denklemi için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

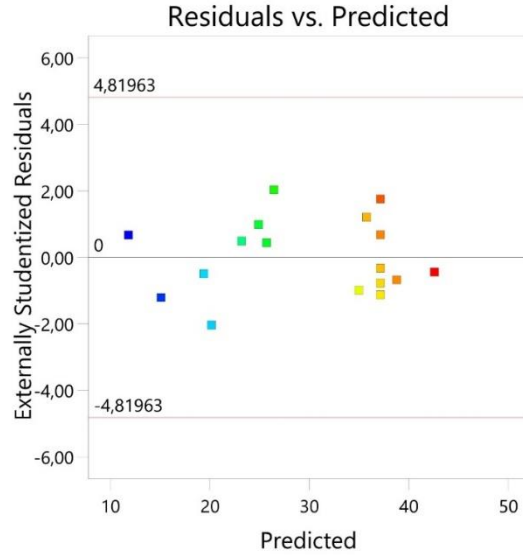
$$\text{Maya hücresi glukoz alım inhibitör aktivite (10 mg/ml): } 37,13 + 2,65*A - 5,79*B + 7,68*C - 5,42*A*B - 2,25*A*C - 2,01*B*C - 2,01*A^2 - 6,41*B^2 + 7,43*C^2$$

Gerçek bağımsız değişkenler cinsinden model denklemi için elde edilen katsayılar şu şekildedir;

$$\begin{aligned} \text{Maya hücresi glukoz alım inhibitör aktivite (10 mg/ml): } & - 74,64425 + \\ & 3,65059 * \text{Zaman} + 4,5489 * \text{Katı/Sıvı} + 0,661435 * \text{Etanol} - \\ & 0,067719 * \text{Zaman} * \text{Katı/Sıvı} - 0,005625 * \text{Zaman} * \text{Etanol} - \\ & 0,004015 * \text{Katı/Sıvı} * \text{Etanol} - 0,031469 * \text{Zaman}^2 - 0,064065 * \text{Katı/Sıvı}^2 + \\ & 0,002974 * \text{Etanol}^2 \end{aligned}$$

Maya Hücresi Glukoz Alımı inhibisyonu

Color points by value of
Maya Hücresi Glukoz Alımı:
12,47  42,13

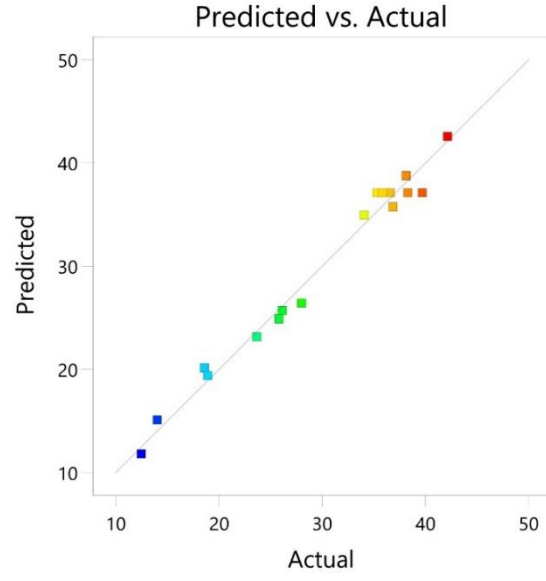


Şekil 4.36. Maya hücresi glukoz alım için artık hataya karşı model tahminleri grafiği.

Şekil 4.36'daki grafikteki değerlerin dağılımı modelin maya hücresi glukoz alım için uyumlu olduğunu göstermektedir.

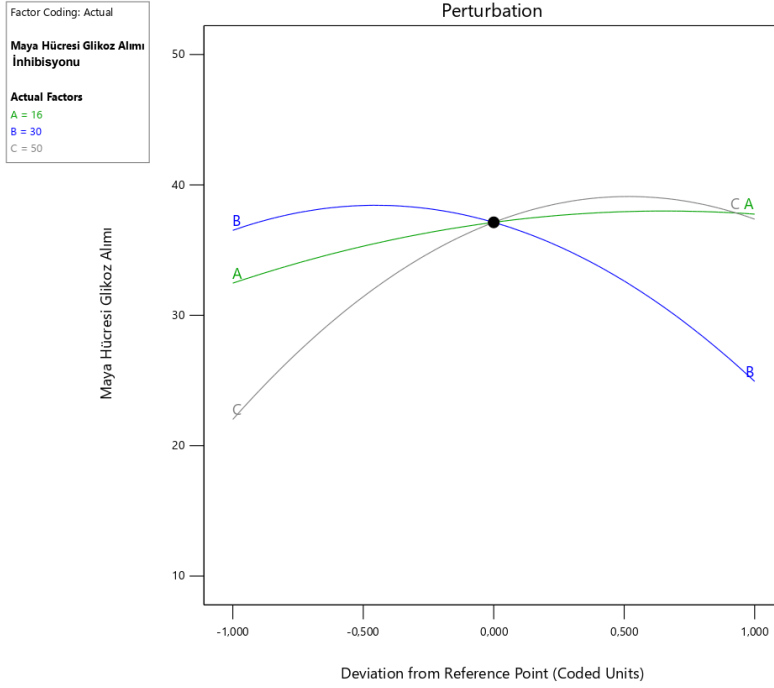
Maya Hücresi Glukoz Alımı İnhibisyonu

Color points by value of
Maya Hücresi Glukoz Alımı:
12,47  42,13



Şekil 4.37. Maya hücresi glukoz alım inhibisyonu testi için beklenen değerlere karşı deneysel değerler için tahmin grafiği

Maya hücresi glukoz alım inhibisyonu testi için eşitlik ile tahminlenen değerler ile deneysel değerler arasındaki ilişki Şekil 4.37’de gösterilmiştir. Şekil 4.37’de grafikteki noktaların lineer doğruya yakın yani tahmin edilen ve deneysel değerlerin birbirine yakın, üst üste örtüştüğü görülmektedir.



Şekil 4.38. Bağımsız değişkenlerin Maya hücresi glukoz alım inhibisyonu testi üzerindeki etkilerinin perturbation grafiği.

Şekil 4.38’te bağımsız değişkenler orta noktada kesişmektedir. Maya hücresi glukoz alım testi için en etkili bağımsız değişkenler etanol yüzdesi (C) ve katı/sıvı oranı (B)’dir. Bu iki değişkenin yanıt üzerindeki etkileri birbirine zıttır. Ekstraksiyon süresi (A) ve etanol yüzdesi (C) etkilerinin yanıt üzerindeki etkileri birbirine benzerdir.

Yapılan analizler sonucunda elde edilen model kullanılarak Maya hücresi glukoz alım inhibisyonu testi 3 boyutlu yüzey eğrileri çizilmiştir. Mevcut çalışmaya ait optimizasyon sonucunda elde edilen grafikler Şekil 4.39, Şekil 4.40 ve Şekil 4.41’de gösterilmiştir. Bu grafikler, faktörlerden birinin deneysel dizaynın merkez noktasında (0) sabit tutulup, diğer iki değişkenin kombinasyonunun verim üzerindeki etkisini göstermektedir.

Maya hücresi glukoz alım inhibisyonu testi için sonuçlar tek bir konsantrasyonda glukoz alımının %inhibisyonu şeklinde hesaplanmıştır. Şekil 4.39 incelendiğinde ekstraksiyon süresinin ve etanol yüzdesinin artmasının cevap üzerinde olumlu etki yaptığı görülmüştür.

Factor Coding: Actual

Maya Hücresi Glikoz Alımı

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

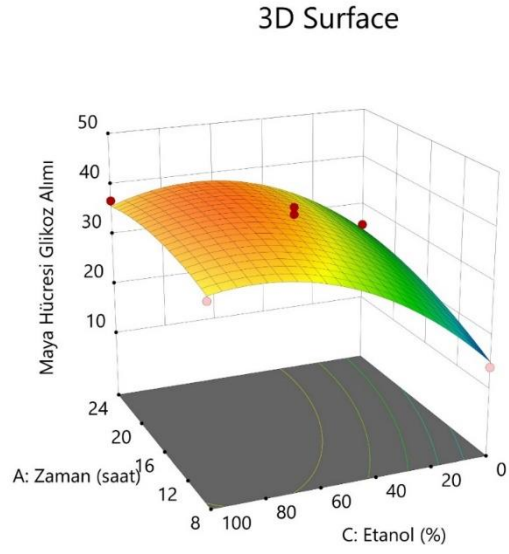
12,47  42,13

X1 = A

X2 = C

Actual Factor

B = 30



Şekil 4.39. Etanol (%) ve zaman etkileşiminin 3D grafiği.

Şekil 4.40'da ekstraksiyon süresinin artmasının katı/sıvı oranından daha büyük bir etki yaptığı ve olumlu olduğu belirlenmiştir.

Factor Coding: Actual

Maya Hücresi Glikoz Alımı

Design Points:

● Above Surface

● Below Surface

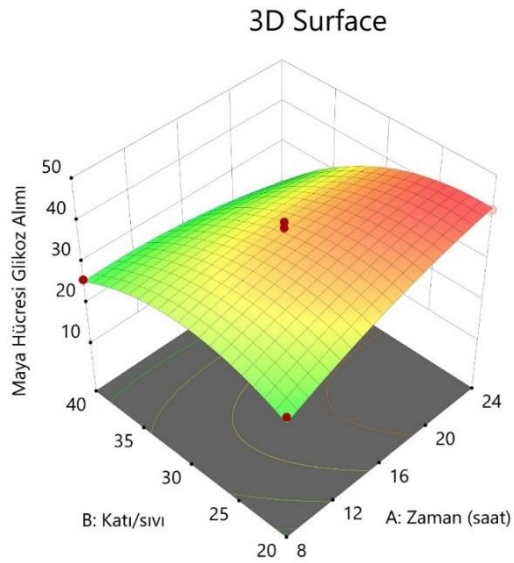
12,47  42,13

X1 = A

X2 = B

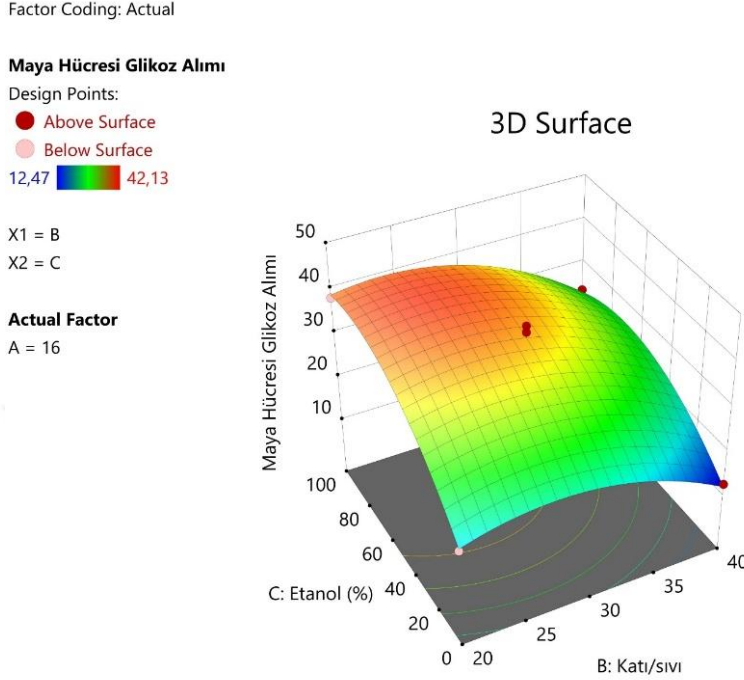
Actual Factor

C = 50



Şekil 4.40. Zaman (saat) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.

Şekil 4.41 incelendiğinde katı/sıvı oranının azalması ve etanolün en düşük seviyelere geldiğinde cevap üzerinde olumsuz etki gösterdiği gözlemlenmiştir.



Şekil 4.41. Etanol (%) ve katı/sıvı etkileşiminin 3D grafiği.

4.2. Optimizasyon

Optimizasyonda 7 farklı yanıt incelenmiştir. Bu yanıtlardan antioksidan kapasitesi troloks eşdeğeri cinsinden hesaplandığı için maksimum olduğu, alfa glukozidaz inhibitör etki IC50 cinsinden hesaplandığı için minimum olduğu ve verimin %15 (en yüksek desirability sonucunun bulunduğu verim noktası) olduğu koşullar için tasarım optimize edilmiştir. Optimizasyon aşamasında toplam protein, toplam fenol miktarı, toplam polisakkarit miktarı ve maya hücresi glikoz alımı elde edilen yanıt değerleri arasında bırakılmıştır. Çizelge 4.19'da seçilen aralıklar tablo halinde verilmiştir.

Çizelge 4.19. Faktörler ve yanıt değerleri için seçilen koşullar ve maksimum-minimum değerleri

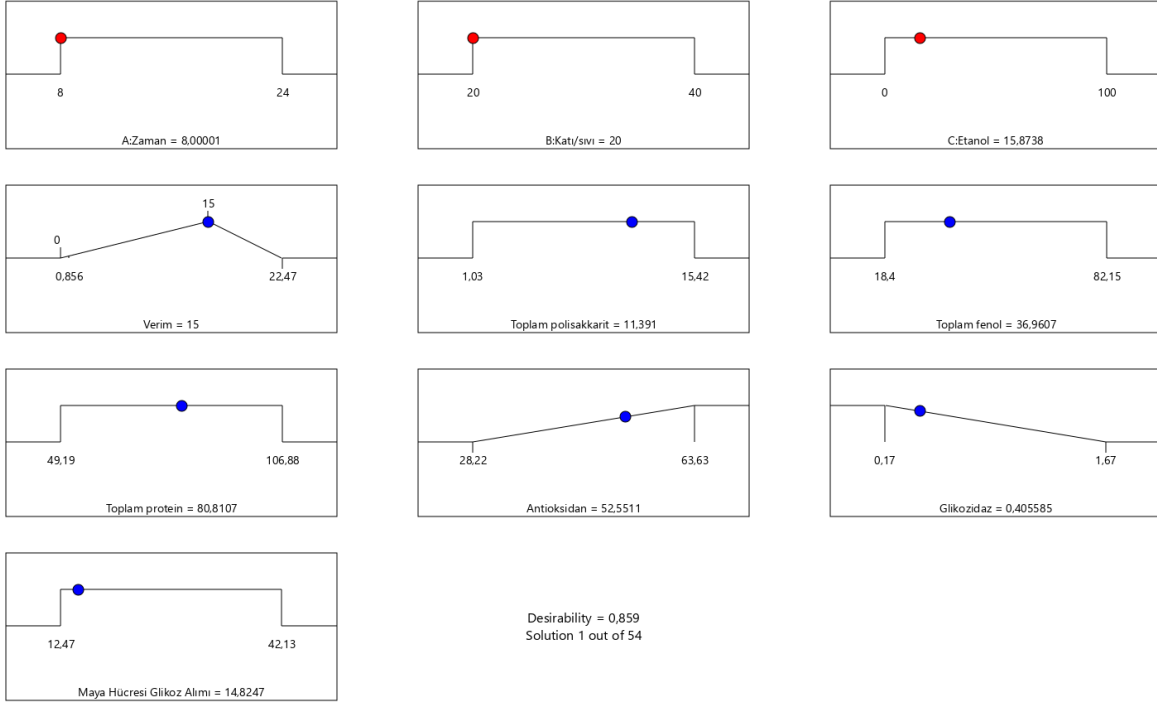
İsim	Aralık	En Düşük	En Yüksek
A:Zaman	Aralıkta	8	24
B:Kati/sıvı	Aralıkta	20	40
C:Etanol	Aralıkta	0	100
Verim	15	0	22,47
Toplam Polisakkarit	Aralıkta	1,03	15,42
Toplam Fenol Miktarı	Aralıkta	18,4	82,15
Toplam Protein Miktarı	Aralıkta	49,19	106,88
Toplam Antioksidan Kapasite	Maksimize	28,22	63,63
Alfa-Glikozidaz Enzim İnhibisyonu	Minimize	0,17	1,67
Maya Hücreсі Glikoz Alım İnhibisyonu	Aralıkta	12,47	42,13

Belirlenen koşullar için program 58 farklı çözüm önermiştir. Bu sonuçlardan toplam polisakkaritin %11,39, alfa glukozidaz inhibitör etkinin 0,41 mg/ml (IC50); maya hücresi glukoz alım inhibisyonunun 10 mg/ml konsantrasyon için %14,825; toplam antioksidan kapasitesinin 52,55 mg Trolox/g kuru ekstre; toplam proteinin 80,811 mg BSA/g kuru ekstre; toplam fenol içeriğinin 36,96 mg GAE/g kuru ekstre ve verimin %15 olduğu 1. çözüm seçilmiştir. Seçilen çözümün “desirability” yani arzu edilebilirliği 0,859’dur. Arzu edilebilirlik sıfırdan hedef değer 1’e kadar değişen bir amaç fonksiyonudur. Bu optimizasyon koşulları için elde edilebilen en iyi arzu edilebilirlik seviyesidir. Çizelge 4.20’de 1 numaralı çözüm önerisi için faktör değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.20. Seçilen çözüm önerisi için faktör değerleri.

Faktör	İsim	Seviye	Alt Sınır	Üst Sınır
A	Zaman	8	8	24
B	Kati/Sıvı	20	20	40
C	Etanol	15,87	0	100

Seçilen 1.Çözüm için ramp grafikleri Şekil 4.42’de verilmiştir.



Şekil 4.42. 1.Çözüm önerisi için oluşturulan ramp grafikleri.

Çözüm seçildikten sonra optimizasyonun tamamlanması için validasyon deneyleri yapılmalı ve sonuçlar kontrol edilmelidir. Yanıt değerleri çok küçüktür ve her deneyde birebir aynı sonucu elde etmek mümkün değildir. Bu nedenle program, seçilen çözüm için “confirmation” kısmında deney için %95’lik güven aralığında kabul edilebilir değerler verir. Seçilen çözüm önerisindeki faktör değerleri ile validasyon deneyleri yapıldıktan sonraki sonuçlar verilen güven aralığında ise optimizasyon tamamlanmış olur.

Çizelge 4.21’de “confirmation” tablosu görülmektedir. Validasyon deneyleri sonunda ulaşılmak istenen, tahmin edilen değerdir. Ama bunun olması çok zor olduğu için %95’lik güven aralığında sonuçlar elde edilmesi yeterlidir. Çizelge 4.21’de görüldüğü üzere programın önerdiği ekstraksiyon koşulları uygulandığında biyoaktiviteler ve içerik analizleri yine programın tahmin ettiği aralıktadır. Tüm sonuçlar incelendiğinde yapılan optimizasyonun validasyonu başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.21. Programdan alınan "Confirmation" tablosu

Analiz	Tahmin Edilen	Std Sapma	95% PI En Düşük	Ortalama Validasyon Sonucu	95% PI En Yüksek
Verim	15,00	1,29	11,45	12,10	18,55
Toplam Polisakkarit	11,39	1,08	8,49	11,33	14,29
Toplam Fenol	36,96	4,10	25,70	38,15	48,22
Toplam Protein	80,81	6,15	65,78	80,74	95,84
Toplam Antioksidan	52,55	3,39	45,03	49,17	60,08
Alfa-Glikozidaz Enzim İnhibisyonu	0,41	0,19	-0,14	0,53	0,95
Maya Hücresi Glikoz Alım İnhibisyonu	14,82	1,85	9,52	16,11	20,13

Bu tez çalışmasında farklı polaritedeki çözücülerin, ekstraksiyon süresinin ve katı/sıvı oranı parametrelerinin *Ulva sp.* ekstraktının verimi; fenol, protein ve polisakkarit içerikleri; antidiyabetik ve antioksidan aktiviteleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak, optimize edilmiş bir ekstraksiyon yöntemi sunulmuştur. Ancak ekstraktın içerdiği sülfatlı polisakkaritler, proteinler ve fenoller gibi bileşiklerin türleri ileri kromatografik analizler ile detaylı şekilde aydınlatılmalıdır. Ayrıca test edilen biyoaktivitelerin kozmetik ve farmasötik amaçlar için kullanılması için daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abbassy, M. 2014. "Insecticidal and Fungicidal Activity of *Ulva lactuca* Linnaeus (Chlorophyta) Extracts and their Fractions". *Annual Research & Review in Biology*, 4(13), 2252–2262.
- Abd-ellatef, G. E. F., Ahmed, O. M., Abdel-Reheim, E. S., Abdel-Hamid, A. H. Z. 2017. "Ulva lactuca polysaccharides prevent Wistar rat breast carcinogenesis through the augmentation of apoptosis, enhancement of antioxidant defense system, and suppression of inflammation". *Breast Cancer: Targets and Therapy*, 9, 67–83.
- Abirami, R. G., Kowsalya, S. 2011. "Nutrient and nutraceutical potentials of seaweed biomass *Ulva lactuca* and *Kappaphycus alvarezii*". *Agricultural Science and Technology*, 5(1), 1–7.
- Abou El Azm, N., Fleita, D., Rifaat, D., Mpingirika, E. Z., Amleh, A., El-Sayed, M. M. H. 2019. "Production of bioactive compounds from the sulfated polysaccharides extracts of *Ulva lactuca*: Post-extraction enzymatic hydrolysis followed by ion-exchange chromatographic fractionation". *Molecules*, 24(11), 2132.
- Al-Amoudi, O. A., Mutawie, H. H., Patel, A. V, Blunden, G. 2009. "Chemical composition and antioxidant activities of Jeddah cornice algae, Saudi Arabia". *Saudi Journal of Biological Sciences*, 16(1), 23–29.
- Al-Malki, A. L. 2020. "In vitro cytotoxicity and pro-apoptotic activity of phycocyanin nanoparticles from *Ulva lactuca* (Chlorophyta) algae". *Saudi journal of biological sciences*, 27(3), 894–898.
- Alagan, V., Valsala, R., Rajesh, K. 2017. "Bioactive Chemical Constituent Analysis, in vitro Antioxidant and Antimicrobial Activity of Whole Plant Methanol Extracts of *Ulva lactuca* Linn". *British Journal of Pharmaceutical Research*, 15(1), 1–14.
- Alghazeer, R., Whida, F., Abduelrhman, E., Gammoudi, F., Azwai, S. 2013.

"Screening of antibacterial activity in marine green, red and brown macroalgae from the western coast of Libya". *Natural Science*, 5, 7–14.

- Almela, C., Algora, S., Benito, V., Clemente, M. J., Devesa, V., Suner, M. A., ... Montoro, R. 2002. "Heavy metal, total arsenic, and inorganic arsenic contents of algae food products". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4), 918–923.
- Alsufyani, T., Califano, G., Deicke, M., Grueneberg, J., Weiss, A., Engelen, A. H., ... Wichard, T. 2020. "Macroalgal–bacterial interactions: identification and role of thallusin in morphogenesis of the seaweed *Ulva* (Chlorophyta)". *Journal of experimental botany*, 71(11), 3340–3349.
- Alves, A., Sousa, R. A., Reis, R. L. 2013. "A practical perspective on ulvan extracted from green algae". *Journal of Applied Phycology*, 25(2), 407–424.
- Arsianti, A., Fadilah, F., Suid, K., Yazid, F., Wibisono, L. K., Azizah, N. N., ... Pangestuti, R. 2016. "Phytochemical composition and anticancer activity of seaweeds *Ulva lactuca* and *Eucheuma cottonii* against breast MCF-7 and colon HCT-116 cells". *Asian J. Pharm. Clin. Res*, 9(6), 115–119.
- Awad, N. E. 2000. "Biologically active steroid from the green alga *Ulva lactuca*". *Phytotherapy Research*, 14(8), 641–643.
- Belhadj, S., Gargouri, M., Guerriero, G., Hentati, O. 2021. "Polysaccharides from the Green Alga *Ulva lactuca* Improve Antioxidant Balance and Bone Mineral Density in Diabetic Rats". *Biomedical and Environmental Sciences*, 34(8), 637–640.
- Benítez-García, I., Dueñas-Ledezma, A. K., Martínez-Montaña, E., Salazar-Leyva, J. A., Carrera, E., Osuna Ruiz, I. 2020. "Identification and quantification of plant growth regulators and antioxidant compounds in aqueous extracts of *Padina durvillaei* and *ulva lactuca*". *Agronomy*, 10(6).
- Borjan, D., Leitgeb, M., Knez, Ž., Hrnčič, M. K. 2020. "Microbiological and Antioxidant Activity of Phenolic Compounds in Olive Leaf Extract".

Molecules.

- Botta, A., Martínez, V., Mitjans, M., Balboa, E., Conde, E., Vinardell, M. P. 2014. "Erythrocytes and cell line-based assays to evaluate the cytoprotective activity of antioxidant components obtained from natural sources". *Toxicology in Vitro*, 28(1), 120–124.
- Chiu, Y. H., Chan, Y. L., Li, T. L., Wu, C. J. 2012. "Inhibition of Japanese Encephalitis Virus Infection by the Sulfated Polysaccharide Extracts from *Ulva lactuca*". *Marine Biotechnology*, 14(4), 468–478.
- Costa, C., Alves, A., Pinto, P. R., Sousa, R. A., da Silva, E. A. B., Reis, R. L., Rodrigues, A. E. 2012. "Characterization of ulvan extracts to assess the effect of different steps in the extraction procedure". *Carbohydrate Polymers*, 88(2), 537–546.
- Devaki, T., Sathivel, A., BalajiRaghavendran, H. R. 2009. "Stabilization of mitochondrial and microsomal function by polysaccharide of *Ulva lactuca* on D-Galactosamine induced hepatitis in rats". *Chemico-Biological Interactions*, 177(2), 83–88.
- Echave, J., Lourenço-Lopes, C., Carreira-Casais, A., Chamorro, F., Fraga-Corral, M., Otero, P., ... Cao, H. 2021. "Nutritional composition of the Atlantic seaweeds *Ulva rigida*, *Codium tomentosum*, *Palmaria palmata* and *Porphyra purpurea*". *Chemistry Proceedings*, 5(1), 67.
- Etsassala, N. G. E. R., Badmus, J. A., Marnewick, J. L., Iwuoha, E. I., Nchu, F., Hussein, A. A. 2020. "Alpha-Glucosidase and Alpha-Amylase Inhibitory Activities, Molecular Docking, and Antioxidant Capacities of *Salvia aurita* Constituents". *Antioxidants* .
- Fernandes, H., Salgado, J. M., Martins, N., Peres, H., Oliva-Teles, A., Belo, I. 2019. "Sequential bioprocessing of *Ulva rigida* to produce lignocellulolytic enzymes and to improve its nutritional value as aquaculture feed". *Bioresource technology*, 281, 277–285.

- Fernández-Agulló, A., Pereira, E., Freire, M. S., Valentão, P., Andrade, P. B., González-Álvarez, J., Pereira, J. A. 2013. "Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts". *Industrial crops and products*, 42, 126–132.
- Fleurence, J., Morançais, M., Dumay, J. 2018. "Seaweed proteins". *Içinde Proteins in food processing* (ss. 245–262). Elsevier.
- Fort, A., Lebrault, M., Allaire, M., Esteves-Ferreira, A. A., McHale, M., Lopez, F., ... Sulpice, R. 2019. "Extensive variations in diurnal growth patterns and metabolism among *Ulva* spp. strains". *Plant physiology*, 180(1), 109–123.
- Fort, A., McHale, M., Cascella, K., Potin, P., Perrineau, M., Kerrison, P. D., ... Costa Azevedo, I. 2022. "Exhaustive reanalysis of barcode sequences from public repositories highlights ongoing misidentifications and impacts taxa diversity and distribution". *Molecular Ecology Resources*, 22(1), 86–101.
- Fouda, A., Eid, A. M., Abdelkareem, A., Said, H. A., El-Belely, E. F., Alkhalifah, D. H. M., ... Hassan, S. E.-D. 2022. "Phyco-synthesized zinc oxide nanoparticles using marine macroalgae, *Ulva fasciata* Delile, characterization, antibacterial activity, photocatalysis, and tanning wastewater treatment". *Catalysts*, 12(7), 756.
- Fractionation, I. C., Abou, N., Azm, E., Fleita, D., Rifaat, D., Mpingirika, E. Z., ... El-sayed, M. M. H. 2019. "Production of Bioactive Compounds from the Sulfated Polysaccharides Extracts of *Ulva lactuca* : Post-Extraction Enzymatic Hydrolysis Followed by", 1–17.
- Garcia-Vaquero, M., Mora, L., Hayes, M. 2019. "In vitro and in silico approaches to generating and identifying angiotensin-converting enzyme I inhibitory peptides from green macroalga *ulva lactuca*". *Marine Drugs*, 17(4), 1–19.
- González-Ballesteros, N., Rodríguez-Argüelles, M. C., Prado-López, S., Lastra, M., Grimaldi, M., Cavazza, A., ... Bigi, F. 2019. "Macroalgae to nanoparticles: Study of *Ulva lactuca* L. role in biosynthesis of gold and silver nanoparticles and of their cytotoxicity on colon cancer cell lines". *Materials*

Science and Engineering: C, 97, 498–509.

- Guedes, É. A. C., Silva, T. G. da, Aguiar, J. S., Barros, L. D. de, Pinotti, L. M., Sant'Ana, A. E. G. 2013. "Cytotoxic activity of marine algae against cancerous cells". *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23, 668–673.
- Haritonidis, S., Malea, P. 1999. "Bioaccumulation of metals by the green alga *Ulva rigida* from Thermaikos Gulf, Greece". *Environmental Pollution*, 104(3), 365–372.
- Hassan, S., El-Twab, S. A., Hetta, M., Mahmoud, B. 2011. "Improvement of lipid profile and antioxidant of hypercholesterolemic albino rats by polysaccharides extracted from the green alga *Ulva lactuca* Linnaeus". *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18(4), 333–340.
- Hassan, S. M., Ghareib, H. R. 2009. "Bioactivity of *Ulva lactuca* L. acetone extract on germination and growth of lettuce and tomato plants". *African Journal of Biotechnology*, 8(16), 3832–3838.
- He, Jinzhe, Xu, Y., Chen, H., Sun, P. 2016. "Extraction, structural characterization, and potential antioxidant activity of the polysaccharides from four seaweeds". *International journal of molecular sciences*, 17(12), 1988.
- He, Juan, Chen, L., Chu, B., Zhang, C. 2018. "Determination of total polysaccharides and total flavonoids in *chrysanthemum morifolium* using near-infrared hyperspectral imaging and multivariate analysis". *Molecules*, 23(9), 1–13.
- Holdt, S. L., Kraan, S. 2011. "Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation". *Journal of applied phycology*, 23, 543–597.
- Hussein, U. K., Mahmoud, H. M., Farrag, A. G., Bishayee, A. 2015. "Chemoprevention of diethylnitrosamine-initiated and phenobarbital-promoted hepatocarcinogenesis in rats by sulfated polysaccharides and aqueous extract of *Ulva lactuca*". *Integrative cancer therapies*, 14(6), 525–

545.

- Kasimala, M. B., Mebrahtu, L., Magoha, P. P., Asgedom, G. 2015. "A review on biochemical composition and nutritional aspects of seaweeds". *Caribbean Journal of Sciences and Technology (CJST)*, 3(1), 789–797.
- Kellogg, J., Lila, M. A. 2013. "Chemical and in vitro assessment of Alaskan coastal vegetation antioxidant capacity". *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(46), 11025–11032.
- Khairy, H. M., El-Sheikh, M. A. 2015. "Antioxidant activity and mineral composition of three Mediterranean common seaweeds from Abu-Qir Bay, Egypt". *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(5), 623–630.
- Kosanić, M., Ranković, B., Stanojković, T. 2015. "Biological activities of two macroalgae from Adriatic coast of Montenegro". *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(4), 390–397.
- L. Al-Malki, A., Barbour, E. K., Balamash, K. S., Alshubaily, F. A., Abualnaja, K. O., Abdulaal, W. H., ... Moselhy, S. S. 2019. "Antiglycation and Fatty Acids Profiling in Response to Phycocyanin Extracted from Chlorophyta *Ulva lactuca* Algae Loaded on Albumin Nano-particles (ULANP) in Diabetic Rats". *Journal of Pharmaceutical Research International*, 26(January), 1–7.
- Labbaci, F. Z., Boukortt, F. O. 2020. "Beneficial Effects of Algerian Green Alga *Ulva lactuca* and Its Hydroethanolic Extract on Insulin Resistance and Cholesterol Reverse Transport in High-Fat/Streptozotocin Diabetic Rats". *Preventive Nutrition and Food Science*, 25(4), 353–361.
- Lahaye, M., Robic, A. 2007. "Structure and functional properties of ulvan, a polysaccharide from green seaweeds". *Biomacromolecules*, 8(6), 1765–1774.
- Lankatillake, C., Luo, S., Flavel, M., Lenon, G. B., Gill, H., Huynh, T., Dias, D. A. 2021. "Screening natural product extracts for potential enzyme inhibitors: protocols, and the standardisation of the usage of blanks in α -amylase, α -

glucosidase and lipase assays". *Plant Methods*, *17*(1), 3.

- Le, B., Golokhvast, K. S., Yang, S. H., Sun, S. 2019. "Optimization of microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Ulva pertusa* and evaluation of their antioxidant activity". *Antioxidants*, *8*(5), 129.
- Lee, D.-G., Hyun, J.-W., Kang, K.-A., Lee, J.-O., Lee, S.-H., Ha, B.-J., ... Lee, J.-H. 2004. "Ulva lactuca: A potential seaweed for tumor treatment and immune stimulation". *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, *9*, 236–238.
- Leelavathi, M. S., Vani, S., Centre, E., Road, M. 2015. "Comparitive Analysis of Phytochemical Compounds of Marine Algae Isolated From Gulf of Mannar". *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *4*(05), 640–654.
- Li, W., Jiang, N., Li, B., Wan, M., Chang, X., Liu, H., ... Liu, S. 2018. "Antioxidant activity of purified ulvan in hyperlipidemic mice". *International journal of biological macromolecules*, *113*, 971–975.
- Liu, X., Liu, D., Lin, G., Wu, Y., Gao, L., Ai, C., ... Zhao, C. 2019. "Anti-ageing and antioxidant effects of sulfate oligosaccharides from green algae *Ulva lactuca* and *Enteromorpha prolifera* in SAMP8 mice". *International Journal of Biological Macromolecules*, *139*, 342–351.
- Mahady, G. B. 2005. "Medicinal plants for the prevention and treatment of bacterial infections". *Current pharmaceutical design*, *11*(19), 2405–2427.
- Mao, W., Zang, X., Li, Y., Zhang, H. 2006. "Sulfated polysaccharides from marine green algae *Ulva conglobata* and their anticoagulant activity". *Journal of Applied Phycology*, *18*(1), 9–14.
- Margret, R. J., Kumaresan, S., Ravikumar, S. 2009. "e On py", *30*(September), 899–902.
- Marsham, S., Scott, G. W., Tobin, M. L. 2007. "Comparison of nutritive chemistry of a range of temperate seaweeds". *Food chemistry*, *100*(4), 1331–1336.

- Massironi, A., Morelli, A., Grassi, L., Puppi, D., Braccini, S., Maisetta, G., ... Chiellini, F. 2019. "Ulvan as novel reducing and stabilizing agent from renewable algal biomass: Application to green synthesis of silver nanoparticles". *Carbohydrate Polymers*, 203, 310–321.
- Meenakshi, S., Gnanambigai, D. M., Mozhi, S. T., Arumugam, M., Balasubramanian, T. 2009. "Total flavanoid and in vitro antioxidant activity of two seaweeds of Rameshwaram Coast". *Global J Pharmacol*, 3(2), 59–62.
- Milchakova, N. A. 2011. "Marine plants of the Black Sea". An Illustrated Field Guide.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., Milner, A. 1993. "A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates.". *Clinical Science (London, England : 1979)*, 84(4), 407–412.
- Monteiro, M., Santos, R. A., Iglesias, P., Couto, A., Serra, C. R., Gouvinhas, I., ... Díaz-Rosales, P. 2020. "Effect of extraction method and solvent system on the phenolic content and antioxidant activity of selected macro-and microalgae extracts". *Journal of Applied Phycology*, 32, 349–362.
- Morelli, A., Puppi, D., Chiellini, F. 2017. "Perspectives on biomedical applications of ulvan". İçinde *Seaweed polysaccharides* (ss. 305–330). Elsevier.
- Nazarudin, M. F., Isha, A., Mastuki, S. N., Ain, N. M., Mohd Ikhsan, N. F., Abidin, A. Z., Aliyu-Paiko, M. 2020. "Chemical composition and evaluation of the α -glucosidase inhibitory and cytotoxic properties of marine algae *Ulva intestinalis*, *Halimeda macroloba*, and *Sargassum ilicifolium*". *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2020.
- Neto, R. T., Marçal, C., Queirós, A. S., Abreu, H., Silva, A. M. S., Cardoso, S. M. 2018. "Screening of *Ulva rigida*, *Gracilaria* sp., *Fucus vesiculosus* and *Saccharina latissima* as Functional Ingredients". *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 2987.

- Nunes, N., Ferraz, S., Valente, S., Barreto, M. C., Pinheiro de Carvalho, M. A. A. 2017. "Biochemical composition, nutritional value, and antioxidant properties of seven seaweed species from the Madeira Archipelago". *Journal of Applied Phycology*, 29, 2427–2437.
- Pal, D., Nayak, A. K. 2021. "*Bioactive natural products for pharmaceutical applications*". Springer.
- Pappou, S., Dardavila, M. M., Savvidou, M. G., Louli, V., Magoulas, K., Voutsas, E. 2022. "Extraction of Bioactive Compounds from *Ulva lactuca*". *Applied Sciences*.
- Peña-Rodríguez, A., Mawhinney, T. P., Ricque-Marie, D., Cruz-Suárez, L. E. 2011. "Chemical composition of cultivated seaweed *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh". *Food chemistry*, 129(2), 491–498.
- Pengzhan, Y., Quanbin, Z., Ning, L., Zuhong, X., Yanmei, W., Zhi'en, L. 2003. "Polysaccharides from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) and preliminary studies on their antihyperlipidemia activity". *Journal of Applied Phycology*, 15(1), 21–27.
- Plaza, M., Cifuentes, A., Ibáñez, E. 2008. "In the search of new functional food ingredients from algae". *Trends in Food Science & Technology*, 19(1), 31–39.
- Postma, P. R., Cerezo-Chinarro, O., Akkerman, R. J., Olivieri, G., Wijffels, R. H., Brandenburg, W. A., Eppink, M. H. M. 2018. "Biorefinery of the macroalgae *Ulva lactuca*: extraction of proteins and carbohydrates by mild disintegration". *Journal of Applied Phycology*, 30, 1281–1293.
- Prabhu, M. S., Israel, A., Palatnik, R. R., Zilberman, D., Golberg, A. 2020. "Integrated biorefinery process for sustainable fractionation of *Ulva ohnoi* (Chlorophyta): process optimization and revenue analysis". *Journal of Applied Phycology*, 32, 2271–2282.
- Pyl, E.-T., Piques, M., Ivakov, A., Schulze, W., Ishihara, H., Stitt, M., Sulpice, R.

2012. "Metabolism and growth in *Arabidopsis* depend on the daytime temperature but are temperature-compensated against cool nights". *The Plant Cell*, 24(6), 2443–2469.

Radhika, D., Mohaideen, A. 2015. "Fourier transform infrared analysis of *Ulva lactuca* and *Gracilaria corticata* and their effect on antibacterial activity". *Asian J. Pharm. Clin. Res*, 8(2), 209–212.

Rasyid, A. 2017. "Evaluation of nutritional composition of the dried seaweed *Ulva lactuca* from Pameungpeuk waters, Indonesia". *Tropical life sciences research*, 28(2), 119.

Ravikumar, S., Anburajan, L., Meena, B. 2016. "Antibacterial activity of *Ulva reticulata* from southwest coast of Kanyakumari, India". *Journal of Coastal Life Medicine*, 4(3), 246–247.

Robic, A, Sassi, J.-F., Lahaye, M. 2008. "Impact of stabilization treatments of the green seaweed *Ulva rotundata* (Chlorophyta) on the extraction yield, the physico-chemical and rheological properties of ulvan". *Carbohydrate Polymers*, 74(3), 344–352.

Robic, Audrey, Sassi, J.-F., Dion, P., Lerat, Y., Lahaye, M. 2009. "SEASONAL VARIABILITY OF PHYSICO-CHEMICAL AND RHEOLOGICAL PROPERTIES OF ULVAN IN TWO *ULVA* SPECIES (CHLOROPHYTA) FROM THE BRITTANY COAST(1)". *Journal of Phycology*, 45(4), 962–973.

Rybak, A. S., Gąbka, M. 2018. "The influence of abiotic factors on the bloom-forming alga *Ulva flexuosa* (Ulvaceae, Chlorophyta): possibilities for the control of the green tides in freshwater ecosystems". *Journal of Applied Phycology*, 30, 1405–1416.

Sanjivkumar, M., Chandran, M. N., Suganya, A. M., Immanuel, G. 2020. "Investigation on bio-properties and in-vivo antioxidant potential of carrageenans against alloxan induced oxidative stress in Wistar albino rats". *International journal of biological macromolecules*, 151, 650–662.

- Sathivel, A., Raghavendran, H. R. B., Srinivasan, P., Devaki, T. 2008. "Anti-oxidative and anti-hyperlipidemic nature of *Ulva lactuca* crude polysaccharide on d-Galactosamine induced hepatitis in rats". *Food and Chemical Toxicology*, 46(10), 3262–3267.
- Shanmugam, A., Palpandi, C. 2008. "Biochemical composition and fatty acid profile of the green alga *Ulva reticulata*".
- Shuuluka, D., Bolton, J. J., Anderson, R. J. 2013. "Protein content, amino acid composition and nitrogen-to-protein conversion factors of *Ulva rigida* and *Ulva capensis* from natural populations and *Ulva lactuca* from an aquaculture system, in South Africa". *Journal of applied phycology*, 25, 677–685.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. 1965. "Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents". *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144 LP – 158. Tarihinde adresinden erişildi <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144.abstract>
- Spavieri, J., Kaiser, M., Casey, R., Hingley-Wilson, S., Lalvani, A., Blunden, G., Tasdemir, D. 2010. "Antiprotozoal, antimycobacterial and cytotoxic potential of some british green algae.". *Phytotherapy Research : PTR*, 24(7), 1095–1098.
- Steinhagen, S., Weinberger, F., Karez, R. 2019. "Molecular analysis of *Ulva compressa* (Chlorophyta, Ulvales) reveals its morphological plasticity, distribution and potential invasiveness on German North Sea and Baltic Sea coasts". *European Journal of Phycology*, 54(1), 102–114.
- Stitt, M., Hurry, V. 2002. "A plant for all seasons: alterations in photosynthetic carbon metabolism during cold acclimation in *Arabidopsis*". *Current opinion in plant biology*, 5(3), 199–206.
- Strati, I. F., Oreopoulou, V. 2011. "Process optimisation for recovery of carotenoids from tomato waste". *Food Chemistry*, 129(3), 747–752.
- Suchinina, T. V., Shestakova, T. S., Petrichenko, V. M., Novikova, V. V. 2011.

"Solvent polarity effect on the composition of biologically active substances, UV spectral characteristics, and antibacterial activity of *Euphrasia brevipila* herb extracts". *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 44, 683–686.

Tariq, A., Athar, M., Ara, J., Sultana, V., Ehteshamul-Haque, S., Ahmad, M. 2015. "Biochemical evaluation of antioxidant activity and polysaccharides fractions in seaweeds". *Global Journal of Environmental Science and Management*, 1(1), 47–62.

Telagari, M., Hullatti, K. 2015. "In-vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of *Adiantum caudatum* Linn. and *Celosia argentea* Linn. extracts and fractions.". *Indian Journal of Pharmacology*, 47(4), 425–429.

Thanh, T. T. T., Quach, T. M. T., Nguyen, T. N., Luong, D. V., Bui, M. L., Van Tran, T. T. 2016. "Structure and cytotoxic activity of ulvan extracted from green seaweed *Ulva lactuca*". *International Journal of Biological Macromolecules*, 93, 695–702.

Trentin, R., Custódio, L., Rodrigues, M. J., Moschin, E., Sciuto, K., Da Silva, J. P., Moro, I. 2020. "Exploring *Ulva australis* Areschoug for possible biotechnological applications: In vitro antioxidant and enzymatic inhibitory properties, and fatty acids contents". *Algal Research*, 50, 101980.

Trivedi, N., Baghel, R. S., Bothwell, J., Gupta, V., Reddy, C. R. K., Lali, A. M., Jha, B. 2016. "An integrated process for the extraction of fuel and chemicals from marine macroalgal biomass". *Scientific reports*, 6(1), 30728.

Tüney, I., Çadirci, B. H., Ünal, D., Sukatar, A. 2006. "Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (İzmir, Turkey)". *Turkish Journal of Biology*, 30(3), 171–175.

Vaghela, P., Trivedi, K., Anand, K. G. V., Nayak, J., Vyas, D., Ghosh, A. 2023. "Aqueous homogenate of fresh *Ulva lactuca* for ameliorating nutrient deficiency—A nutraceutical alternative to using whole seaweeds". *Algal Research*, 103211.

- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., Telser, J. 2004. "Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence". *Molecular and cellular biochemistry*, 266, 37–56.
- Van den Burg, S. W. K., Stuiver, M., Veenstra, F. A., Bikker, P., Contreras, A. M. L., Palstra, A. P., ... Gerritsen, A. L. 2013. "*A Triple P review of the feasibility of sustainable offshore seaweed production in the North Sea*". Wageningen UR.
- Vane, J., Botting, R. 1987. "Inflammation and the mechanism of action of anti-inflammatory drugs". *The FASEB journal*, 1(2), 89–96.
- Vega-Gálvez, A., Uribe, E., Gómez-Pérez, L. S., García, V., Mejias, N., Pastén, A. 2022. "Drying kinetic modeling and assessment of mineral content, antimicrobial activity, and potential α -glucosidase activity inhibition of a green seaweed (*Ulva* spp.) subjected to different drying methods". *ACS omega*, 7(38), 34230–34238.
- Villares, R., Puente, X., Carballeira, A. 2002. "Seasonal variation and background levels of heavy metals in two green seaweeds". *Environmental Pollution*, 119(1), 79–90.
- Wang, R., Paul, V. J., Luesch, H. 2013. "Seaweed extracts and unsaturated fatty acid constituents from the green alga *Ulva lactuca* as activators of the cytoprotective Nrf2-ARE pathway". *Free Radical Biology and Medicine*, 57, 141–153.
- Wathoni, N., Shan, C. Y., Shan, W. Y., Rostinawati, T., Indradi, R. B., Pratiwi, R., Muchtaridi, M. 2019. "Characterization and antioxidant activity of pectin from Indonesian mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) rind". *Heliyon*, 5(8).
- Wichard, T., Charrier, B., Mineur, F., Bothwell, J. H., Clerck, O. De, Coates, J. C. 2015. "The green seaweed *Ulva*: a model system to study morphogenesis". *Frontiers in plant science*, 6, 72.
- Yaich, H., Amira, A. Ben, Abbes, F., Bouaziz, M., Besbes, S., Richel, A., ...

Garna, H. 2017. "Effect of extraction procedures on structural, thermal and antioxidant properties of ulvan from *Ulva lactuca* collected in Monastir coast". *International Journal of Biological Macromolecules*, *105*, 1430–1439.

Yaich, H., Garna, H., Besbes, S., Barthélemy, J.-P., Paquot, M., Blecker, C., Attia, H. 2014. "Impact of extraction procedures on the chemical, rheological and textural properties of ulvan from *Ulva lactuca* of Tunisia coast". *Food Hydrocolloids*, *40*, 53–63.

Yaich, H., Garna, H., Besbes, S., Paquot, M., Blecker, C., Attia, H. 2011. "Chemical composition and functional properties of *Ulva lactuca* seaweed collected in Tunisia". *Food chemistry*, *128*(4), 895–901.

Yaich, H., Garna, H., Besbes, S., Paquot, M., Blecker, C., Attia, H. 2013. "Effect of extraction conditions on the yield and purity of ulvan extracted from *Ulva lactuca*". *Food Hydrocolloids*, *31*(2), 375–382.

Zhu, C., Zhang, S., Song, C., Zhang, Y., Ling, Q., Hoffmann, P. R., ... Huang, Z. 2017. "Selenium nanoparticles decorated with *Ulva lactuca* polysaccharide potentially attenuate colitis by inhibiting NF- κ B mediated hyper inflammation". *Journal of Nanobiotechnology*, *15*(1), 1–15.

TEŞEKKÜR

Bu alıŐma sűresince kıymetli gűrűŐlerinden yararlandıđım ve yakın ilgisini esirgemeyen sevgili danıŐman hocam Sayın Prof. Dr. Ođuz Bayraktar'a, yűksek lisans eđitim sűrem boyunca omuz omuza çalıŐtıđım, beni her zaman destekleyen, motive eden çok deđerli takım arkadaŐım AyŐe Nur Akgedik'e teŐekkűrű bir borç bilirim.

Bűtűn eđitim hayatım boyunca sonsuz bir anlayıŐ ve sabırla beni motive eden, her tűrlű destek ve emeđiyle sűrekli arkamda duran, hakkını hiçbir zaman űdeyemeyeceđim sevgili annem İkbal ŐDER ve babam Műslűm ŐDER baŐta olmak űzere aileme ve arkadaşlarıma çok teŐekkűr ederim.

15 / 08 / 2023

İmzası

Gizem ÖDER