

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

TERMAL SU SİYANOBAKTERİSİ *PSEUDANABAENA*
SP.'NİN ESANSİYEL YAĞ VE FİKOBİLİPROTEİN
İÇERİĞİNİN TESPİTİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MÜRŞİT KOVANCI

ŞUBAT 2016

MUĞLA

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

TERMAL SU SİYANOBAKTERİSİ
***PSEUDANABAENA SP.*'NİN ESANSİYEL YAĞ**
VE FİKOBİLİPROTEİN İÇERİĞİNİN TESPİTİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MÜRŞİT KOVANCI

ŞUBAT 2016

MUĞLA

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

MÜRŞİT KOVANCI tarafından hazırlanan “**TERMAL SU SİYANOBAKTERİSİ PSEUDANABAENA SP.'NİN ESANSİYEL YAĞ VE FİKOBİLİPROTEİN İÇERİĞİNİN TESPİTİ**” başlıklı tezinin, 01/02/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JÜRİSİ

Doç. Dr. Levent İZCİ (Jüri Başkanı)

Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Ana Bilim Dalı
Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta

İmza:

Doç. Dr. Ali GÜNLÜ (Danışman)

Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Doç. Dr. Latif TAŞKAYA (Üye)

Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Doç. Dr. Mehmet KIR

Su Ürünleri Mühendisliği Ana Bilim Dalı Başkanı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Doç. Dr. Ali GÜNLÜ

Danışman, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Savunma Tarihi: 01/02/2016

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

Mürşit KOVANCI

01/02/2016



ÖZET

TERMAL SU SİYANOBAKTERİSİ *PSEUDANABAENA SP.*'NİN ESANSİYEL YAĞ VE FİKOBİLİPROTEİN İÇERİĞİNİN TESPİTİ

Mürşit KOVANCI

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ali GÜNLÜ

Şubat 2016, 53 sayfa

Fikobiliproteinler hücrelerin ve makro moleküllerin floresans markırları, doğal boyar madde ve antikanserojen madde olarak suda çözünebilen faydalı bileşiklerdir. Pek çok uygulama alanı olmasına rağmen temelde saflaştırma ve ekstraksiyon maliyetinin yüksek olması nedeniyle kullanımları sınırlıdır. Biz bu çalışma ile *Pseudanabaena sp.* için yüksek verim elde edilen ekstraksiyon tamponu ve en uygun gelişim ortamının seçimini amaçladık.

Bu çalışmada kullanılan *Pseudanabaena sp.* (EGE-MACC 40) kültürü, Ege Üniversitesi (Türkiye) Algal Kültür Koleksiyonundan elde edilmiştir. Çalışmanın birinci aşamasında, hücre kültürleri aynı çevresel şartlar altında farklı kültür ortamları kullanılarak geliştirildi. *Pseudanabaena sp.*'nin üretim işlemi sırasında kuru ağırlık analizleri ve spektrofotometrik ölçümleri gerçekleştirildi. Kültür setlerinde maksimum gelişim oranı ASN III ve BG 11 ortamlarında belirlendi. Kültürleme sonunda ölçülen kuru ağırlıklar sırasıyla 2,76 g/L ve 0,91 g/L olarak tespit edildi. Ayrıca liyofilize edilmiş alg hücrelerinden yağ asitleri petrol eteri/kloroform (80/20 v/v) karışımı ile ekstrakte edildi. Yağ asitlerinin miktar ve tanımlanması, kütle spektrofotometresi ile birleştirilmiş gaz kromatografisinde yapıldı. Yağ asit özütlerinde, baskın yağ asitleri C16:00 (Palmitik asit) ve C18:1 (Oleik asit) karbon zincirine sahip yağ asitleridir.

Çalışmanın son aşamasında, liyofilize *Pseudanabaena sp.* biomasından fikobiliproteinlerin özütlenmesi için basit ve etkili bir metot bildirilmiştir. Türün fikobiliproteinleri saf su, 0.15M kalsiyum klorür tamponu, 100mM sodyum fosfat tamponu (pH 7), sodyum asetat tamponu ve sodyum klorür tamponu ile birlikte ultrasonik banyo kullanılarak özütlendi. Ultrasonik banyo kullanarak fikosiyanın (PC), allofikosiyanın (APC) ve fikoeritrin (PE) üretiminde maksimum değerler safsu (0.345 mg/mL, 0.150 mg/mL ve 0.020 mg/mL) ve takiben sodyum fosfat tamponunda (0.339 mg/mL, 0.141 mg/mL ve 0.013 mg/mL) elde edildi. PC'nin saflığı A620/A280 absorban oranı temel alınarak hesaplandı. Maksimum PC saflık

oranı kalsiyum klorür tamponunda (1.108) belirlendi. Ayrıca, elde edilen saf fikosiyanın doğal boyar özellikleri, gıda ve kozmetik araştırmalarının gelecekte ki uygulamaları için olanak sağlar ölçüde olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler:*Pseudanabaena* sp., Kültür Şartları, Fikobiliproteinler, Yağ Asitleri



ABSTRACT

DETERMINATION OF ESSENTIAL OIL AND PHYCOBILIPROTEIN CONTENTS OF THERMAL WATER CYANOBACTERI *PSEUDANABAENA* SP.

Mürşit KOVANCI

Master of Science (M.Sc.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Fisheries

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ali GÜNLÜ

February 2016, 53 pages

Phycobiliproteins are water soluble proteins useful as fluorescent markers of cells and macromolecules and as natural colorants and are anticarcinogenic. Although phycobiliproteins have many applications, their use is limited by the high cost of the purified macromolecules, mainly related with the cost of extraction and purification. This study aimed to selection of extraction buffer for the highest yield phycobiliproteins and the most appropriate growth medium for *Pseudanabaena* sp.

The culture of *Pseudanabaena* sp. (EGE-MACC 40) used in this study was obtained from the Collection of Algal Cultures at the University of Egean, Turkey. The first stage of the study, cell cultures were developed using different culture mediums under the same environmental conditions. During the production process of *Pseudanabaena* sp. was performed dry weight analysis and spectrophotometric measurements. In cultivation sets, maximum growth rates were obtained in ASN III and BG 11 mediums. Dry weights measured at the end of these cultivations are 2.76 g/L and 0,91 g/L dry weight respectively. Thus, fatty acids from lyophilized blue-green algal cells were extracted with a mixture petroleum ether/chloroform (80/20 v/v). The identification and quantification of fatty acids was performed using gas chromatography coupled to mass spectrometer (GC × GC/MS). The extracted fatty acids were dominated by those with carbon chain of C16:0 (Palmitic acid) and C18:1 (Oleic acid).

The final stage of the study, a simple and efficient method to extract of phycobiliproteins from *Pseudanabaena* sp. lyophilized biomass is reported. Phycobiliproteins of *Pseudanabaena* sp. was extracted using ultrasonic bath in distilled water, 0.15M calcium chloride buffer, 100mM sodium phosphate buffer (pH 7) sodium acetate buffer and sodyum klorür buffer. It was observed that maximum phycocyanin, allopycociyanin and phycoerythrin production using ultrasonic bath

was in distilled water (0.345 mg/mL, 0.150 mg/mL and 0.020 mg/mL), ensued by sodium phosphate (0.339 mg/mL, 0.141 mg/mL and 0.013 mg/mL). The purity of phycocyanin is evaluated based on the absorbance ratio of A620/A280. The purity of phycocyanin is evaluated based on the absorbance ratio of A620/A280. While the maximum phycocyanin purity ratio was obtained in calcium chloride buffer (1,108). Also, obtaining pure phycocyanin allows one to evaluate its naturel colorant properties for future applications in food and pharmaceutical research.

Keywords: *Pseudanabaena* sp., Culture Conditions, Phycobiliproteins, Fatty Acids



ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda desteğini benden esirgemeyen, çalışmalarında bilgi ve deneyimlerini titizlikle bana aktaran sayın danışman hocam Doç. Dr. Ali GÜNLÜ'ye, laboratuvar çalışmalarında tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam Araş. Gör. Dr. Yunus ALPARSLAN'a, kültür üretim aşamalarında yardımcı olan Su Ürünleri Mühendisi Emrah MEMİŞ'e, Su Ürünleri Teknikeri Rıdvan ACAR'a, Biyolog Nazlı YILDIRIM'a ve tüm emeği geçenlere minnetlerimi sunuyorum.

Ayrıca bu çalışmaya her türlü desteği sağlayan Başoğlan Çınar Tur. Tar. İnş. Müh. İth. İhr. Ltd. Şti.-Umut Termal Otel işletme sahibi Kadir BAŞOĞLAN ve işletme çalışanlarına teşekkür ediyorum.

Tezin hazırlanması sırasında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen başta annem olmak üzere tüm aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma, Bilim Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından **0608.STZ.2013-2** proje numarası ile **SAN-TEZ** Projesi olarak desteklenmiş olup desteklerinden dolayı Bilim Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı'na teşekkür ediyorum.

MÜRŞİT KOVANCI

ŞUBAT 2016

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
SEMBOL VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETİ	3
2.1. Cyanophyceae (Mavi-Yeşil Alg-Cyanophyta-Cyanobacteria)	3
2.2. <i>Pseudanabaena</i> sp.'nin Genel Özellikleri.....	4
2.3. Mavi-Yeşil Alglerin Pigment Proteinleri	5
2.3.1. Fikosiyanin	6
2.3.2. Fikoeritrin.....	8
2.3.3. Allofikosiyanin.....	9
2.4. Konuyla İlgili Yapılan Çalışmalar	10
3. MATERYAL VE METOT	15
3.1. Materyal.....	15
3.1.1. Kültürü yapılan tür	15
3.1.2. Kullanılan tamponlar ve hazırlanışı	16
3.1.2.1. <i>Sodyum asetat tamponu</i>	16
3.1.2.2. <i>Sodyum fosfat tamponu</i>	16
3.1.2.3. <i>Sodyum klorür tamponu</i>	16
3.1.2.4 <i>Kalsiyum klorür tamponu</i>	16
3.2. Metot	16
3.2.1. Organizma geliştirme şartları	16
3.2.2. <i>Pseudanabaena</i> sp.'nin büyüme eğrisinin hesaplanması	20
3.2.2.1. <i>Kuru ağırlık ölçümü</i>	20
3.2.2.2. <i>Spektrofotometrik ölçümler</i>	21
3.2.2.3. <i>pH ölçümü</i>	22
3.2.3. Fikobiliproteinlerin özütlenmesi	22
3.2.3.1. <i>Özütlemeye optimum tampon ve sürenin belirlenmesi</i>	23
3.2.3.2. <i>Fikobiliproteinlerin hesaplanması</i>	24
3.2.4. Esansiyel yağ asit analizleri	24
3.2.4.1. <i>Mavi-yeşil alg'in metillenmesi ve analize hazırlanması</i>	24

3.2.4.2. Gaz kromatografi (GC) analizi.....	25
3.2.4.3. Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi (GC/MS) analizi.....	25
3.2.5. İstatistikî analizler	26
4.BULGULAR	27
4.1. Optik Dansitite Ölçüm Sonuçları	27
4.2. Kuru Ağırlık Ölçüm Sonuçları	28
4.3. Deneme Gruplarının pH Değeri Ölçüm Sonuçları	30
4.4. PC İçeriğinin Özütleme Tamponuna Bağlı Saatlik Değişimi	31
4.5. APC İçeriğinin Özütleme Tamponuna Bağlı Saatlik Değişimi.....	32
4.6. PE İçeriğinin Özütleme Tamponuna Bağlı Saatlik Değişimi.....	33
4.7. PC İçeriğinin Özütleme Tamponuna Bağlı Dakikalık Değişimi	34
4.8. APC İçeriğinin Özütleme Tamponuna Bağlı Dakikalık Değişimi	36
4.9. PE İçeriğinin Özütleme Tamponuna Bağlı Dakikalık Değişimi	37
4.10. Liyofilize Alg Örneğinin Esansiyel Yağ Asidi İçeriği	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	39
KAYNAKLAR	46

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. JM ortam içeriği ve hazırlanışı	17
Çizelge 3.2. BG 11 ortam içeriği ve hazırlanışı	17
Çizelge 3.3. ASN III ortam içeriği ve hazırlanışı.....	18
Çizelge 3.4. Toprak ekstresi ilavesiyle hazırlanan termal su ve toprak ekstresi ilaveli musluk suyu ortamlarının içeriği ve hazırlanışı.....	18
Çizelge 3.5. GC analiz şartları	25
Çizelge 3.6. GC-MS analiz şartları	26
Çizelge 4.1. Deneme gruplarının 590 dalga boyundaki optik yoğunluk ölçüm sonuçları	27
Çizelge 4.2. Kuru ağırlık ölçüm sonuçları	29
Çizelge 4.3. Deneme gruplarının pH değeri ölçüm sonuçları.....	30
Çizelge 4.4. PC içeriğinin özütleme tamponuna bağlı saatlik değişimi.....	32
Çizelge 4.5. APC içeriğinin özütleme tamponuna bağlı saatlik değişimi.....	33
Çizelge 4.6. PE içeriğinin özütleme tamponuna bağlı saatlik değişimi.....	34
Çizelge 4.7. PC içeriğinin özütleme tamponuna bağlı dakikalık değişimi	35
Çizelge 4.8. APC içeriğinin özütleme tamponuna bağlı dakikalık değişimi	36
Çizelge 4.9. PE içeriğinin özütleme tamponuna bağlı dakikalık değişimi	37
Çizelge 4.10. BG 11 ortamında üretilmiş örneğin esansiyel yağ asidi içeriği	38

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Fikobilizomlarda fikobiliproteinlerin dağılımı	6
Şekil 2.2. Fikosiyaninin trimer ve hegzamer yapıları	7
Şekil 2.3. Fikosiyaninin zincir görünümü	7
Şekil 2.4. Fikosiyanin genel yapısı	8
Şekil 2.5. Fikoeritrin zincir görünümü	8
Şekil 2.6. Fikoeritrin genel yapısı	9
Şekil 2.7. Allofikosiyaninin trimer görünümü	9
Şekil 2.8. Allofikosiyaninin zincir görünümü	10
Şekil 3.1. BG 11 ortamında geliştirilen <i>Pseudanabaena</i> sp.'nin mikroskop görüntüsü.....	15
Şekil 3.2. JM ve BG 11 ortamlarında üretilmiş örnekler	19
Şekil 3.3. Yoğun üretime alınmış alg örnekleri	20
Şekil 3.4. Örneklerin süzülmesi ve tartımı.....	21
Şekil 3.5. Spektrofotometrede optik yoğunluğun ölçülmesi.....	22
Şekil 3.6. Fikosiyaninin sıvı ve liyofilize edilmiş görüntüsü.....	23
Şekil 4.1. Deneme gruplarının 590 dalga boyundaki optik yoğunluk ölçüm sonuçları.....	28
Şekil 4.2. Kuru ağırlık ölçüm sonuçları	29
Şekil 4.3. Deneme gruplarının pH değeri ölçüm sonuçları.....	31

SEMBOL VE KISALTMALAR DİZİNİ

APC	Allofikosiyenin
ASN III	Mavi-Yeşil Alg Gelişim Ortamı
BG 11	Blue Green 11
ÇS	Çeşme Suyu
DK	Dakika
JM	Jaworski Medium
PC	Fikosiyenin
PE	Fikoeritrin
TS	Termal Su
TE	Toprak Ekstratı
OD	Optik Yoğunluk
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi

1. GİRİŞ

Renk pigmenti üreten mikroalgler doğada yaygın olarak bulunmakta ve bu alglerden fikosiyanın, ksantofil, fikoeritrin üretimi yapılmaktadır. Mikroalgler, ticari değere sahip olan bazı metabolitleri biriktirme özelliğine sahip olan mikrobiyal canlılardır. Karbonhidratları, proteinleri, esansiyel aminoasitleri, yağları, pigment maddelerini ve biyoaktif molekülleri içermekte ve bunları üretmektedirler. Alglerin çoğu geçmişten günümüze kadar gıda olarak tüketilmekte ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle yaygın şekilde kullanılmaktadır (Çelikel vd., 2006).

Günümüz gıda sanayinde özellikle içecek ve şekerleme sanayinde sentetik mavi boyaların kullanımı kısıtlanmakta ve bunun yerine doğal mavi renkli (fikosiyanın) boyaların kullanımı artmaktadır (Herrera vd., 1989; Henrikson, 2011). Fikosiyanın; gıda, ilaç ve kozmetik sanayilerinde doğal bir pigment olarak kullanımı yaygınlaşmaktadır. Bu kapsamda mavi-yeşil alglerden elde edilen doğal ve mavi renkli bir pigment olan fikosiyanın üretimi dikkat çekmiştir. Fikosiyanın bu amaçla dünyada çeşitli firmalar tarafından ekonomik olarak üretimi yapılmaktadır. Japonya'da "Dainippon Ink. & Chemicals Inc." şirketi "Lina Mavisi" adıyla ticari olarak fikosiyanın üretimi yapmakta ve kg fiyatını 130 dolardan satışa sunmaktadır (Akoğlu ve Çakmakçı, 2011).

Bu algler gıda endüstrisinde doğal olması, sağlıklı ve cezbedici olmasından dolayı gıdalarda kullanımı artırmaktadır. Gıda sanayinde katkı maddesi olarak doğal gıda renklendiricilerinin kullanımı, gerek üretici gerekse tüketici açısından son derece olumlu sonuçlar doğurmaktadır. Doğal renk maddelerinin son yıllarda, gıdalardaki kullanımında artışına paralel olarak pazarlama olanakları gelişmiş ve tüketicilerinde doğal maddelere yönelimi belirgin artış görülmüştür. Sentetik renklendiricilerin kötü etkilerini engellemek için doğal maddelerin üretimine ve geliştirilmesine yönelik araştırmalar tüm dünya çapında hızla artmıştır (Akoğlu, 2012).

Algler içerdikleri vitaminler, pigmentler, proteinler, mineraller, lipid ve polisakkaritler gibi farklı kimyasal ve biyolojik bileşikleri üretme özelliği nedeniyle oldukça önemli organizmalardır. Mikroalgler; gelişmiş ülkelerde gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisi ihtiyaçlarını karşılama amacı ile yüksek katma değere sahip fikosiyanin ve fikoeritrin gibi pigment proteinlerinin eldesinde kullanılmaktadırlar. Son yıllarda yapılan pek çok çalışmada mavi-yeşil alglerin yüksek besinsel içeriği yanı sıra içerdikleri fikobilinproteinleri nedeniyle bağışıklık sistemini destekleyici antioksidant, antiviral, anti-inflamatuar, anti-kanser ve anti-diabetik etkileri ortaya çıkarılmıştır (Qureshi ve Ali, 1996a,b; Romay vd., 1998,Liu vd., 2000; Gantar vd., 2012).

Mikroalgler, akuatik ekosistemlerdeki biyolojik ve ekolojik rollerinin yanı sıra gerek insan sağlığı gerekse akuakültürde yetiştirilen sucul hayvanlar için önemli besin maddeleridir. Günümüzde birçok mikroalg türü yüksek protein, beta-karoten, doymamış yağ asiti, vitamin ve pigment içeriklerinden dolayı endüstriyel amaçlı biyoteknolojik çalışmalarda kullanılmaktadırlar. Biyoteknolojik çalışmalar 1950'li yıllardan beri özellikle *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Dunaliella*, *Spirulina* ve *Haematococcus* cinslerine ait türler ile yapılmaktadır. Mikroalgler, akuakültürde alabalık, karides, süs balığı ve somon yetiştiriciliğinde pigment kaynağı olarak kullanılır. Bu pigment maddeleri renk verici özelliklerinin yanı sıra, balıkların yaşama oranlarının arttırılması ve hızlı gelişimi için de önemlidir. Pigment içeren mikroalgler doğada yaygın olarak bulunmakta ve bu alglerden, β -karoten, astaksantin, fikosiyanin, ksantofil, fikoeritrin elde edilmektedir (Duru ve Yılmaz, 2013).

Bu çalışma ile; ticari olarak fikobiliprotein eldesinde kullanılan türlere alternatif olabilecek yeni bir türün belirlenmesi amacıyla, termal su mavi-yeşil algi olan *Pseudanabanea* sp.'nin kontrollü şartlarda üretimi, en ideal gelişim şartlarının tespiti, fikobiliprotein ve esansiyel yağ içeriğinin belirlenmesi ile fikobiliproteinlerin özütlenmesi de kullanılacak uygun tampon yada tamponların saptanması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETİ

2.1. Cyanophyceae (Mavi-Yeşil Alg-Cyanophyta-Cyanobacteria)

Mavi yeşil algler gerçek çekirdek ve plastitleri olmayan prokaryotik organizmalardır (Cirik ve Gökpınar, 2006). Çekirdek zarları bulunmadığı için pigment maddeleri ve DNA sitoplâzma içinde dağınık halde bulunmaktadır. Peptidoglikan yapısında hücre duvarı bulunur ancak prokaryot gruplara özgü 70S ribozom yerine 80S ribozom bulundurlar. Hücreleri; müsilaçlı ve çift çeperden oluşan ince bir kın ile çevrilidir ve karotenoid yönünden zengindir (Cirik ve Cirik, 2004).

Mur vd., (1999), mavi-yeşil alglerin anaerobik metabolizmaya sahip mikroorganizmalar olduğu, yaşamları için karbondioksit, su, inorganik bileşikler ve ışığa gereksinimleri duyduğu, enerji ihtiyaçlarını fotosentez ile sağladığı, fakat bazı türlerin hiç fotosentez yapmadan da kemoheterotrof olarak uzun süre karanlık ortamda yaşayabildiklerini bildirmişlerdir (Akoğlu ve Çakmakçı, 2011).

Mavi-yeşil alglerin dağılım alanı sıcak su kaynaklarından, Antartika'da geçici olarak donan su habitatlarına kadar geniş bir alanı kapsamaktadır (Hitzfeld vd., 2000). Yapısında bulunan pigmentler sayesinde karbondioksiti ve suyu, ışığın etkisi ile karbonhidratlara dönüştürürler ve bu şekilde su ortamındaki çözülmüş oksijen oranını ve besin miktarının artmasına yardımcı olurlar (Kahraman ve Küplülü, 2012).

Planktonik mavi-yeşil algler tek hücreli veya çok hücreli koloni oluşturabildikleri gibi iplikçi yapıda da olabilirler. Üremeleri vejetatif bölünmeyle veya kokosporve hormospor şeklinde spor hücreleriyle olmaktadır. İplikçi yapıların bazılarında ipliği oluşturan hücrenin arasında tek bir hücreden oluşan akinetlere (dayanıklı hücre) rastlanılmaktadır. Elverişli şartlar oluştuğunda tallus iplikçi gövdeden koparak yeni bir tallus meydana getirmektedir. Tallusu oluşturan hücrelerin arasında akinetten daha kalın ve saydam görünümlü, havanın serbest azotunu absorbe edebilen, fotosentez yapma özelliğini kaybetmiş heterosist adı verilen hücreler organizmanın sistematikteki yerinin belirlenmesinde etkili olmaktadır (Cirik ve Gökpınar, 2006).

Graham vd., (2004), dünya'nın yaşının 4,6 milyar yıl olduğu ve yerküredeki ilk yaşamın da 3,7 ile 3,85 milyar yıl önce ortaya çıktığını, bu dönemin en eski organizmalarına ait bulgular günümüzden 3,5 milyar yıl önce denizlerde yaşayan prokaryotik hücre yapısında, fotosentez yapabilme özelliğine sahip, fotosentetik (Cyanobacteria:Cyanophyta) mavi-yeşil algler olduğunu bildirmişlerdir. Bu organizmalar dünyada bilinen en eski oksijen üreten ve fotosentez yapan organizma grubudur; klorofil-a ve klorofil-b ile beraber yardımcı birçok fotosentetik pigmentle beraber birincil üretimi yapan; ilk karasal ototrof canlılardır (Taş ve Taş, 2007).

Mavi-yeşil algler ekolojik, evrimsel ve ekonomik olarak önemli canlılardır. Azotun tespit edilmesi ve fotosentezin tam olarak gerçekleşmesi heterosistli mavi-yeşil alglerle gerçekleşmektedir. Atmosferdeki oksijenin en az %50'sini mavi-yeşil algler, geri kalanını ise diğer algler sağlamaktadır (Taş ve Taş, 2007).

Mikroalgler içinde mavi-yeşil algler çeşitli etkin maddeler, protein, pigment maddeler, yağ asitleri, antibiyotik, polisakkarit ve daha birçok metaboliti yapılarında doğal olarak bulunduklarından ve yüksek miktarda içerdiklerinden sağlık için faydalıdır (Cirik vd., 2008). Diğer canlı kaynaklarla kıyaslandığında algler, özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), gamma linoleik asit (GLA), allokosiyenin, C-fikosiyenin, fikoeitrin gibi pigmentler açısından oldukça zengindir (Koru ve Cirik, 2003). Ayrıca, balıklar ve diğer sucul organizmalar için besin maddesinin en önemli kısmını oluşturdıklarından doğadaki besin zincirinin başlangıç noktasıdır (Dalay vd., 2008).

2.2. *Pseudanabaena* sp.'nin Genel Özellikleri

Pseudanabaena sp., koloni oluşturmayan, tek tek trikomlara sahip mavi-yeşil alg türüdür. Hücreler, dikdörtgen ya da eliptik şekilde, belirgin bir biçimde birbirinden ayrılmış, hareketli ve kılıfsızdır. Çamurlu ortamlarda, sıcak sularda ve rutubetli yerlerde bulunabilirler (Castenholz vd., 2001; Dumluşınar,2012). Hücreler birbirlerine kılıf bulunmayan müsilaj köprülerle bağlanmıştır. Ayrıca, hücrelerde spor ve heterosist oluşumu görülmez (Cirik ve Gökşınar, 2006).

Türün sistematikteki yeri;

Classis: Cyanophyceae

Ordo: Oscillatoriales

Familya: Pseudanabaenaceae

Subfamilya: Pseudanabaenoideae

Genus: Pseudanabaena (Ulçay vd., 2007;Dumlupınar, 2012)

Pseudanabaena sp. heterosist yapısı bulunmayan, bazı türlerinde tamamlayıcı kromatik adaptasyona sahip mavi-yeşil alg türüdür. Bu özellik organizmaya yardımcı fotosentetik fikosiyenin ve fikoeritrin pigmentleri oranının düzenlemesini sağlar. Bu durum, türü diğer mavi-yeşil alg türlerine göre daha üstün kılar. Kültür edilmiş suşlardan bazıları anaerobik azot fiksasyonu yapma yeteneğine sahiptirler (Acinas vd., 2008).

Sandık (2009) yaptığı çalışmada,*Pseudanabaena* sp.'ye ait bazı suşlarda polar gaz vasikülü bulunduğu, fakat bu suşlar ile kontrollü şartlarda üretim yapıldığında gelişme göstermediği belirtilmiştir. Ayrıca, türün denizlerden, tatlı su kaynaklarından, arıtım tesislerinden, termal kaynaklardan, pirinç tarlalarından ve topraktan izole edilebildiği, bu kadar geniş alanlarda dağılım gösterdiklerinden dolayı ekolojik gereksinimleri tam olarak bilinmediği vurgulanmıştır.

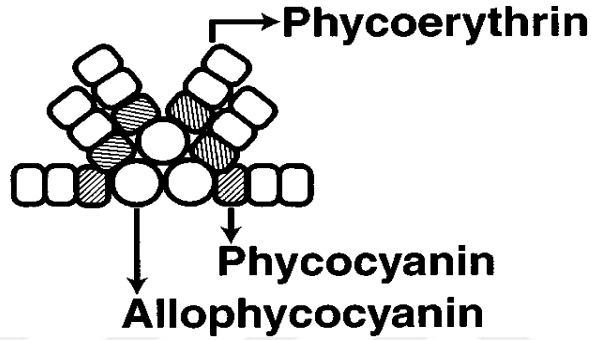
Pseudanabaena sp. termal sular, deniz suları ve tatlı su kaynaklarında yayılım gösterir, anaerobik ve sülfid içeren sedimentlerde de bol miktarda bulunurlar. Tatlı su formlarından bazıları, planktonik siyanobakterilerin müsilajının içerisinde yer alırlar (Bergey ve Hold, 1994). Cirik vd. (2008) ve Tamburacı (2009) tarafından ülkemizde termal suların mavi-yeşil alg içeriğine yönelik yapılan çalışmalarında, baskın türler arasında bulunduğu bildirilmiştir.

2.3. Mavi-Yeşil Alglerin Pigment Proteinleri

Mavi-yeşil alglerde fotosentez olayını gerçekleştiren fotosistem I ve fotosistem II olarak iki fotoreaksiyon merkezi vardır. Bu merkezin tüm bileşenleri tilakoid membranda yer alır ve tilakoid membranda iki tane grup anten pigmenti vardır.

Birinci grupta klorofil-a ve karatenoidler, ikinci gruptaysa fikobilizomlar içinde yer alan fikobiliproteinlerdir. Birinci gruptaki anten pigmentleri emilen ışık enerjisini fotosistem I'e gönderirken, ikinci grup anten pigmentleri ise aynı şekilde emdikleri ışık enerjisini fotosistem II'ye gönderirler (Tunail, 2009).

Fikobiliproteinler emilim özelliklerine fikosiyeninler (C-PC, λ_{mak} . 615-640 nm), fikoeritrinler (C-PE, λ_{mak} . 540-570 nm) ve allofikosiyeninler (C-APC λ_{mak} . 650-655 nm) (Şekil 2.1.) olmak üzere 3 ana gruba ayrılırlar (Bermejo vd., 2006).



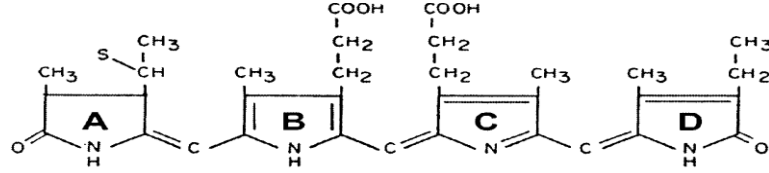
Şekil 2.1. Fikobilizomlarda fikobiliproteinlerin dağılımı (MacColl 1998)

Mavi-yeşil alglerde bulunan fikobiliproteinlerin %75'ini fikosiyenin, %12'sini allofikosiyenin ve %12'sini de fikoeritrinler ve pigmentless polipeptit yapılar oluşturmaktadır (Tunail, 2009). Mavi-yeşil alglerde bulunan fikoeritrin ve fikosiyenin spektroskopik özelliklerine ve kromofor miktarına göre izole edildiğinde, sentez sırasında fikoeritrinin ışık yoğunluğundan etkilendiği belirlenmiştir (Bryant, 1982).

2.3.1. Fikosiyenin

Fikosiyenin; mavi renkli, suda çözülebilen, antioksidan ve güçlü floresan özelliğine sahip, toksin olmayan, sıvı ya da toz halinde bulunan fotosentetik bir pigment maddesidir. Mavi-yeşil alglerde yüksek miktarda bulunur ve ekonomik olarak önemli fikobiliprotein türüdür. Hücre içinde kuru ağırlığın yaklaşık %20'si oranında fikosiyenin bulunmaktadır (Santiago-Santos vd., 2004).

Fikosiyanin yapısı kültürü yapılan türe ve ortam koşullarına göre farklılık göstermektedir. Prostetik grubu olan ve proteine mavi rengi veren fikosiyanobilin kromoforu farklı yerlerden sistein aminoasitine bağlanarak fikosiyanin yapısının (Şekil 2.4.) oluşumunu sağlar (Adir ve Lerner, 2003; Santiago-Santos vd., 2004; Contreras-Martel vd., 2007).



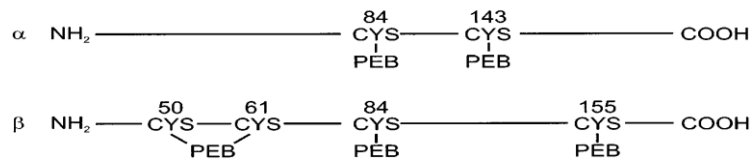
Şekil 2.4. Fikosiyanin genel yapısı (MacColl 1998)

Vonshak, (1997), fikosiyanin pigmentinin ışık hassasiyetinin yüksek olması nedeniyle doğal olarak kurutulmuş ürünün pigment içeriğinin düştüğünü, bu nedenle rengin korunabilmesi için ışığın engellenmesi gerektiğini bildirmiştir (Oğuz, 2008).

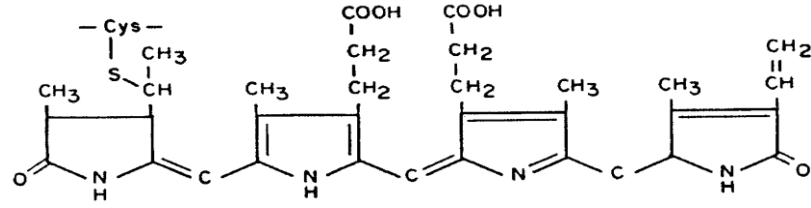
2.3.2. Fikoeritrin

Kırmızı renkli fikobiliproteinler fikoeritrin olarak adlandırılır. Çoğunluğu kırmızı alglerde bulunan onun dışında da mavi-yeşil alglerde bulunan kırmızı renkli kromoproteindir. Kırmızı alglere kırmızı rengin verilmesini ve kısa dalgalı ışıkları almasını sağlayan proteik boya maddesidir (Bat vd.,2014).Floresan ışık altında parlak turuncu renk gösteren, kırmızı renkli, 490-570 nm arasında en yüksek absorbanı veren pigmenttir (Erdal ve Ökmen, 2013).

Fikoeritrin α ve β olmak üzere iki alt zincirden oluşur (Şekil 2.5.) ve bu zincirler birbiriyle karşılıklı durumdadır. α zincirinde, fikosiyanobilin 84. ve 143. sistein aminoasitine β zincirinde ise dört adet fikosiyanobilin 50. 61. 84. ve 155. sistein aminoasitlerine bağlanmıştır (Şekil 2.6.) (MacColl, 1998).



Şekil 2.5. Fikoeritrinin zincir görünümü (MacColl 1998)

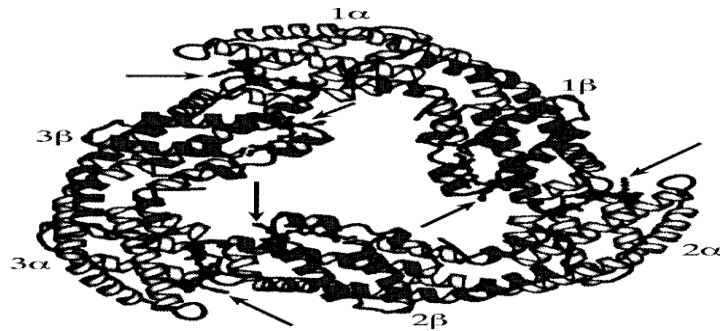


Şekil 2.6. Fikoeritrinin genel yapısı (MacColl 1998)

Fikoeritrin pigmenti terapatik özelliğe sahip, suda eriyebilen ve gıdalarda doğal renklendirici olarak, kozmetik ve eczacılık alanında kullanılmaktadır. Bu mikroalgler biyoreaktörlerde güneş ışığı ya da yapay ışıkla besleyici ortamlarda geliştirilmekte ve en çok pigment 20-30⁰C'de ve orta şiddet ışık altında sağlanmaktadır. Fikoeritrin çeşitli gıdalarda doğal renklendirici olarak; konfeksiyonda, jelatin içeren tatlılarda ve süt ürünlerinde kullanılmakta ve gıdalara katılma oranı gıda çeşidine göre farklılık göstermekle beraber ortalama 50-100 mg/kg dır. 60⁰C' de 30 dk stabil olan pigment, 6-7 pH arasında tazeliğini ve etkinliğini korumaktadır. Kırmızı fikoeritrin sarı floresana sahip olması nedeni ile gıdalara bazı spesifik özellikler kazandırmaktadır. Bu amaçla lolipoplarda, alkollü ve alkolsüz içeceklerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Arad veYaron, 1992; Yaron ve Arad, 1993;Çelikel vd., 2006).

2.3.3. Allofikosiyanin

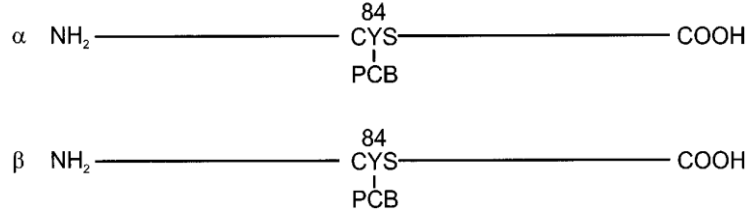
Allofikosiyanin, fikosiyanin veya fikoeritrin molekülleri ile çevrili olup ve trimeri (Şekil 2.7.) maksimum piki 650 nm, monomeri ise 614 nm de verir (MacColl, 1998; Erdal ve Ökmen 2013). Allofikosiyaninler fikobilizomlar ve fotosentetik lameller arasında bağlayıcı pigment görevini üstlenirler (Sarada vd., 1999).



Şekil 2.7 Allofikosiyanin trimer görünümü (MacColl 1998)

Allofikosiyenin α ve β olmak üzere iki alt zincirden oluşur ve bu zincirler birbiriyle karşılıklı durumdadır. α zincirinde, fikosiyanobilin 84. sistein aminoasitine β zincirinde 84. sistein aminoasitine (Şekil 2.8.) bağlanmıştır (MacColl, 1998).

Allophycocyanin



Şekil 2.8. Allofikosiyenin zincir görünümü (MacColl 1998)

2.4. Konuyla İlgili Yapılan Çalışmalar

Ülkemizde ve Dünyada mavi-yeşil algler üzerine yapılmış çalışmaların genel özetleri aşağıda verilmiştir;

Fujita ve Shimura (1974), mavi-yeşil alg olan *Trichodesmium thiebautii*'de bulunan fikoeritrini araştırmıştır. Çalışmada alg örnekleri doğal habitatlarından olan, Batı Çin Denizinden toplanmıştır. Fikoeritrin 3 pikle görünebilir dalga boyu bölgesinde 500, 547 ve 565 nm'de absorpsiyon spektrumu ve florasan uyarı spektrumu göstermiştir. Bu özelliğin sadece 565 nm'ye sahip siyanofit fikoeritrinlerden farklı olduğu fakat rhodofit fikoeritrinler ile benzerlik gösterdiği (500, 550 ve 565 nm) tespit edilmiştir.

Canto de Loura vd. (1987) tarafından mavi-yeşil alglerde lipit ve pigmentlerin üzerine azot eksikliğinin etkisi araştırılmıştır. Gelişmiş bitkiler ve ökaryotik alglerin aksine mavi-yeşil alg *Pseudanabaena* sp. (M2suşu) ve *Oscillatoriasplendi* da (L3suşu)'nın büyüme sırasında azot eksikliği, pigment kompozisyonunda değişiklikler yarattığı, hücre lipit ve yağ asidi kompozisyonunda ise değişikliğe yol açmadığı belirlenmiştir. Azot eksikliği kloforil-a pigmentini etkilemediği, fakat fikobiliproteinlerde bir kayba neden olduğu bulunmuştur. Çalışma sonucunda

Pseudanabaena sp.'nin parinarik asit, α -linolenik asit ve β - linolenik asit bakımından zengin olduğu tespit edilmiştir.

Chen ve Zhang (1997) yaptıkları çalışmada; *S. platensis* kesikli kültürü 30°C'de tutulmuş ve 80-160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 'de sürekli aydınlanma sağlanmıştır. Çalışmada fotoototrofik kesikli kültürde maksimum fikosiyanın üretimi 280 mgL^{-1} olarak saptanmış ve biyomas yoğunluğu 2,0 gL^{-1} olarak belirlenmiştir.

Kirkwood vd. (2003), mavi-yeşil alg komunitelerinin kâğıt hamuru ve kâğıt atıklarının arıtımındaki fizyolojik özelliklerini ve organik kontaminantları biyolojik olarak parçalama kapasitelerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, *Pseudanabaena* sp. türünü kullanmışlardır. *Pseudanabaena* sp. asetatlı ortamda yeterli büyüme gösterirken, ortamda glukoz varlığında minimum büyüme göstermiştir. *Pseudanabaena* sp. 2,4-diklorofenol ve 3-klorobenzoat akümüle etmiştir fakat minimum düzeyde karbondioksite mineralizasyon saptanmıştır.

Brownlee vd. (2003) arpa samanının tatlı ve acı sularda bulunan fitoplankton ve mavi-yeşil alglere olan etkisini araştırmışlardır. Arpa samanının *Ankistrodesmus falcatus*, *Chlorellacapsulata*, *Isochrysis* sp. ürünlerini azalttığı *Cyclotella* sp., *Prorocentrum minimum*, *Pseudanabaena* sp. türlerinin büyümesine etkili olmadığı sonucuna varmıştır.

Liu vd. (2005) *Polysiphonia urceolata*'dan PE'nin saflaştırılması ve ayırımında tek adımlı kromatografi methodunu çalışmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre saf PE'nin A565/A280 oranı 5,6 ve verim değeri ise %67,33 olarak tespit edilmiştir. Yazarlar tarafından, yapılan doğal-PAGE ve SDS PAGE analizleri sonucunda elde edilen PE'nin, diğer protein bulaşanlarını içermediği ve bahsedilen methodun ayırım için etkili bir method olduğu vurgulanmıştır.

Patil vd. (2006) tarafından *S. platensis*'den yüksek saflıkta PC eldesine yönelik yaptıkları çalışmalarında, ham özütün saflığı 1,18 olarak bildirilmiş, saflaştırma işlemi sonrası saflık 6,69 seviyesine çıkarıldığı bildirilmiştir.

Sekar ve Chandramohan (2008) fikosiyanınin Japonya ve Çin'de sakız, şeker, süt ürünleri, reçel, dondurma, alkolsüz içecekler gibi gıda ürünlerinde ve kozmetikte doğal renklendirici olarak kullanıldığını bildirmişlerdir.

Tamburacı (2009), *Pseudanabaena* sp.'nin doğal ortamından (termal su) izole edilerek laboratuvar koşullarında üretiminin sağlanması, en uygun büyüme koşullarının belirlenmesi, bu şekilde ticari üretimi için bir altyapı oluşturulmasını ve hakkında yeterince literatür bulunmayan *Pseudanabaena* sp. türü ile ilgili bilimsel bir veri tabanı oluşturulmasını amaçladıkları çalışmalarında, farklı ışık yoğunlukları, sıcaklıklar ve besin ortamları denenerek bu parametrelerin mikroorganizma üzerindeki etkisi incelenmiştir. Üretim sonunda ise toplam yağ miktarı, protein miktarı ve polisakkarit miktarı belirlenmiştir.

Yüksel vd. (2009), İzmir ili ve çevresindeki termal tesislerden elde edilen mavi-yeşil algleri (siyanobakteriler) laboratuvar ortamında izole edip, moleküler yöntemlerle tür tayinin de bulunmuşlardır. Zeytin dalı kaplıcaları, Şifne Termal Otel ve Balçova Termal Otel olmak üzere 3 istasyondan elde edilen 4 mavi-yeşil alg türü, laboratuvar ortamında saflaştırılarak izole edilmişlerdir. Analizler sonucunda doğrultusunda, örneklerden üçünün *Geitlerinema* cinsi olduğu diğer türün ise kültürü belirlenmemiş tür olduğu belirtilmiştir.

Mishra vd. (2010), deniz mavi-yeşil algi *Pseudanabaena* sp'den elde edilen PE'nin stabilitesi üzerine $0^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ ve $35^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'deki sulu solüsyonlarında sitrik asit, sodyum klorid, sukroz ve kalsiyum kloridin etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre 45 günlük sürede C-fikoeritrin için en iyi koruyucunun sitrik asit (4 mg/mL) olduğu bulunmuştur.

Moraes vd. (2010) *S. platanses*'den PC'nin özütlenmesi üzerine yaptıkları çalışmalarında, kurutulmuş ve dondurulmuş biomasda PC konsantrasyonu 13,20 mg/ml, saflık 0,603 ve verim 82,48 olarak bulunmuştur.

Ramos vd. (2010) genişletilmiş yatak absorpsiyon kromatografisi kullanarak *Anabaenamarina*'dan C-fikosiyanın büyük ölçekli izolasyonu ve saflaştırmasını çalışmışlardır. Bu çalışma ile genişletilmiş yatak absorpsiyon tekniğinin büyük miktarlarda C-fikosiyanın eldesinde faydalı olduğunu belirlemiştir.

Mishra vd. (2011), iki adımlı kromatografik metotlar kullanarak denizel *Pseudanabaena* sp.'den C-fikoeritrin izolasyonu ve saflaştırmasını yapmışlardır. Saflaştırılan C-fikoeritrinde ürün miktarı kuru hücre ağırlığının 13.6 mg/g'ı ile %47

oranında tespit edilmiştir. Elde edilen yüksek oranda saflaştırılmış C-fikoeritrinin floresan özelliklerinden dolayı ileride uygulanabilecek biyokimyasal ve biyomedikal çalışmalarda değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır.

Moraes vd. (2011)'de C-fikosiyaninin gıdalarda doğal mavi renk olarak kullanılabilmesini bildirmişlerdir. Çalışmalarında basit ve etkili bir yöntem olan ve 6 çeşidi olan kimyasal ve fiziksel yöntemleri kullanmıştır. En iyi ekstraksiyon yönteminin ultrasonik banyoda cam bilyeler ile olduğunun bu yöntemin diğer yöntemlere göre %56' oranla daha etkili olduğunu ve verimin ise 43.75 mg/g⁻¹ olarak tespit etmiştir.

Oğuz vd. (2011) tarafından mavi-yeşil alg *Spirulina platensis* kültürlerinde mevsime bağlı sıcaklık ve aydınlanma şiddetinin mavi renkli pigment olan C-fikosiyanin ve protein içeriğine etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, dış ortam koşullarında ve sera içerisinde fiber-glass havuzlarda nisan, temmuz ve eylül aylarında yapılan denemelerde C-fikosiyanin miktarı sonbahar mevsiminde daha yüksek saptanırken, ilkbahar ve yaz mevsiminde düşük bulunmuştur.

Gantar vd. (2012) tatlı su mavi-yeşil algi olan *Limnothrix* sp. suşundan elde edilen PC'nin antioksidant aktivitesini belirledikleri çalışmalarında kuru biomasdan %18 oranında PC elde edildiği bildirilmiştir.

Liu vd., (2012) tarafından *S. platensis*'den PC ve APC'nin ayrılmasında ters akımlı sulu iki faz sistemin etkinliği çalışılmışlar, sonuç olarak bahsedilen yöntem PC ve APC'nin ayrımında oldukça etkili ve ucuz bir method olduğu bulunmuştur.

Mishra vd. (2012), *Pseudanabaena* sp.'de bulunan C-fikoeritrin üretimi üzerine ışık kalitesinin etkisiyle ilgili araştırmalarında klorofil-a, fikoeritrin, fikosiyanin ve karotenoid gibi pigmentleri içeren mavi-yeşil alglerin farklı ışık modları altında kültüre almışlardır. 16 rRNA gen dizisi esas alındığında izolat *Pseudanabaena* sp. olduğu belirlenmiştir. En yüksek biyokütle konsantrasyonu beyaz, mavi ve yeşil ışıkta elde edilmiştir. En yüksek fikoeritrin üretimi yeşil ışıkta gerçekleşmiştir. Sarı ışıkta ise pigment üretimi ve büyüme oranında 12. günden sonra düşüş meydana gelmiştir. *Pseudanabaena* sp.'nin yeşil ışık altında fikoeritrin pigmentinin üretiminde daha etkili olduğunu saptamıştır.

Yılmaz vd. (2010) tarafından farklı tuzlulukta gelişen *S. platensis*'in yağ asit kompozisyonundaki değişimlerin çalışıldığı araştırmalarında, lipit düzeyinin tuzluluk artışına paralel olarak arttığı, yağ asit kompozisyonunda değişimler olduğu, temel yağ asitlerinin palmitik asit, dekanoik asit, gama-linoleik asit, linoleik asit, palmiteoleik asit ve stearik asit olduğu bildirilmiştir.

Sorensen vd. (2013), *Galdieriasulp huraria*'dan fotosentetik pigment C-fikosiyan saflaştırılmıştır. C-fikosiyanin diğer mavi-yeşil alg fikosiyanini ile benzer özellikler gösterdiği ve başlangıçta düşük olan saflık derecesi amonyum sülfatla çöktürme, sulu iki faz ekstraksiyonu, ultrafiltrasyon ve iyon değişim kromatografisi sonrası yükseldiğini tespit etmişlerdir.

Zili vd. (2015) farklı NaNO_3 konsantrasyonları, ışık yoğunluğu ve sıcaklık kombinasyonlarının termofilik *Gloeocapsa gelatinosa*'nın yağ asit kompozisyonu üzerine etkilerini araştırdığı çalışmalarında, dominant doymuş 16:0, 18:0 karbonlu, doymamış ise 18:1n9c ve 16:1n7 karbonlu yağ asitleri olduğu bildirilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kùltürü yapılan tür

Çalışmada materyal olarak Denizli İli, Sarayköy İlçesi'nde bulunan Umut Termal Otel'in termal sularından izole edilmiş Ege Üniversitesi Mikro Alg Kùltür Koleksiyonundan temin edilmiş (EGE-MACC 40) BG 11 ortamında geliştirilmiş *Pseudanabaena* sp.,'nin saf kùltürü kullanılmıştır.



Şekil 3.1. BG 11 ortamında geliştirilen *Pseudanabaena* sp.'nin mikroskop görüntüsü (40x büyütme) (Orjinal)

3.1.2. Kullanılan tamponlar ve hazırlanışı

3.1.2.1. Sodyum asetat tamponu

0,68 g (5mmol) $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$ (sodyum asetat trihidrat) bir miktar saf su içerisinde çözülmüş (pH 5) ve üzerine %99,5'lik CH_3COOH (glacial asetik asitten) 0,28 mL (5mmol) eklenerek son hacim 1 L'ye tamamlanarak hazırlanmıştır (Anonim, 2011).

3.1.2.2. Sodyum fosfat tamponu

0,78 g (5mmol) $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ (sodyum dihidrojenfosfat) bir miktar saf su içerisinde çözülmüş (pH 7) ve üzerine 1,79 g (5mmol) $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ (sodyum hidrojenfosfat) eklenerek son hacim 1 L'ye tamamlanarak hazırlanmıştır (Anonim, 2011).

3.1.2.3. Sodyum klorür tamponu

0,15M için 1 L'ye 8,76 g NaCl (sodyum klorür) tartılıp son hacim saf suyla 1 L'ye tamamlanarak hazırlanmıştır (Anonim, 2011).

3.1.2.4. Kalsiyum klorür tamponu

0,15M için 1 L'ye 10 g $CaCl_2$ (kalsiyum klorür) tartılıp son hacim saf suyla 1 L'ye tamamlanır (Anonim, 2011).

3.2. Metot

3.2.1. Organizma geliştirme şartları

Ege Üniversitesi Kültür Koleksiyonundan temin edilen *Pseudanabaena* sp., türünün üretim denemelerinde saf su ile hazırlana JM (Jaworski Ortamı) (Çizelge 3.1), BG 11 (Çizelge 3.2), ASN III (Çizelge 3.3) ortamlarıyla birlikte toprak ekstraktı ilave

edilmiş termal su (TS+TE) ve toprak ekstraktı ilave edilmiş musluk suyu (MS+TE) (Çizelge 3.4) olmak üzere 5 farklı kültür ortamı kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. JM (Jaworski Medium) ortam içeriği ve hazırlanışı
(<http://www.ccap.ac.uk/media/documents/JM.pdf>)

Stok	Stok kimyasallar	Her 200 mL'deki Miktar
(1)	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	4.0 g
(2)	KH ₂ PO ₄	2.48 g
(3)	MgSO ₄ .7H ₂ O	10.0 g
(4)	NaHCO ₃	3.18 g
(5)	EDTAFeNa	0.45 g
	EDTANa ₂	0.45 g
(6)	H ₃ BO ₃	0.496 g
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0.278 g
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0.20 g
(7)	Cyanocobalamin	0.008 g
	Thiamine HCl	0.008 g
	Biotin	0.008 g
(8)	NaNO ₃	16.0 g
(9)	Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	7.2 g
1-9 arasındaki stok solüsyonlardan 1mL alınıp saf su ile 1 L tamamlanır.		

Çizelge 3.2. BG 11 ortam içeriği ve hazırlanışı (Stanier vd., 1971)

Stok	Stok kimyasallar	Her Litredeki Miktarı
(1)	NaNO ₃	15.0 g
Her 500 mL'deki Miktarı		
(2)	K ₂ HPO ₄	2.0 g
(3)	MgSO ₄ .7H ₂ O	3.75 g
(4)	CaCl ₂ .2H ₂ O	1.80 g
(5)	Sitrik asit	0.30 g
(6)	Ammonium ferric citrate green	0.30 g
(7)	EDTANa ₂	0.05 g
(8)	Na ₂ CO ₃	1.00 g
(9)	İz metal solüsyonu	Her Litredeki Miktarı
	H ₃ BO ₃	2.86 g
	MnCl ₂ .4H ₂ O	1.81 g
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.22 g
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.39 g
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.08 g
	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0.05 g
Stok solüsyon 1'den		100 ml
Stok solüsyon 2-8'den		10 ml
Stok solüsyon 9'dan		1 ml
1000mL'ye saf su ile tamamlanmış ve 15psi'de 15 dk otoklavlanmıştır.		

Çizelge 3.3. ASN III ortam içeriği ve hazırlanışı
(<http://www.atcc.org/~media/D3547D63F887423DAFB39841A5B588B9.ashx>)

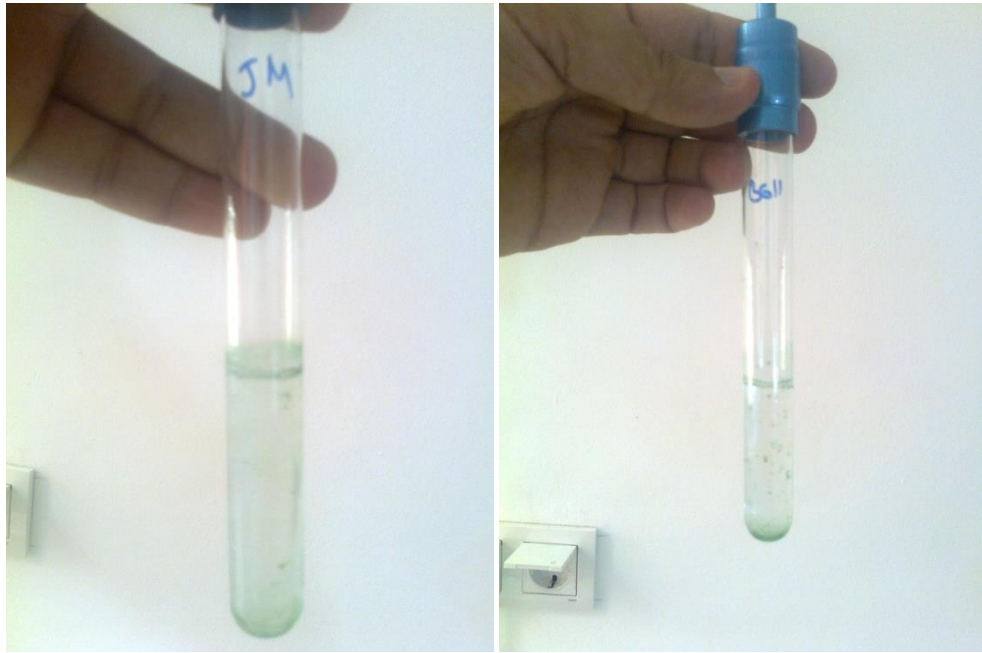
Stok	Stok kimyasallar	Her Litredeki Miktarı
(1)	NaCl	25.0 g
(2)	MgSO ₄ .7H ₂ O	3.5 g
(3)	MgCl ₂ .6H ₂ O	2.0 g
(4)	CaCl ₂ .2H ₂ O	0.5 g
(5)	KCl	0.5 g
(6)	Sitrik asit	3.0 mg
(7)	Ammonium ferric citrate green	3.0 mg
(8)	EDTA	0.5 mg
(9)	A-5 İz metal solüsyonu	1 ml
(10)	NaNO ₃	0,75 g
(11)	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0.75 g
(12)	Na ₂ CO ₃	0.02 g
(13)	Vit B12	10.0 mcf
(14)	Deiyonize saf su	1000 ml
	İz metal solüsyonu içeriği	Her Litredeki Miktarı
(1)	H ₃ BO ₃	2.86 g
(2)	MnCl ₂ .4H ₂ O	1.81 g
(3)	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.222 g
(4)	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.039 g
(5)	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.079 g
(6)	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0.049 g
(7)	Deiyonize saf su	1000 ml

Çizelge 3.4. Toprak ekstresi ilavesiyle hazırlanan termal su (TS+TE) ve toprak ekstresi ilaveli musluk suyu (MS+TE) ortamlarının içeriği ve hazırlanışı (Cirik ve Gökpinar, 2006)

Stok	Stok kimyasallar	Her 1000 mL'deki Miktarı
(1)	NaNO ₃	0,375 g
(2)	Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	0,02 g
(3)	Ammonium ferric citrate green	0,0075 g
(4)	Toprak ekstratı	25 ml
(5)	Termal su / Çeşme suyu	1000 ml

Üretim çalışmasında kullanılan termal su ve çeşme suyu olası kontaminasyonlardan ve bulanıklık oluşturan kirlilikten arındırmak için kaba filtre kâğıdından süzülükten sonra kullanılmıştır. Toprak ekstresinin eldesin de termal turba çamuru kullanılmış, 200 g turba çamuru 1L saf su ile karıştırılmış, 105°C'de otoklavda 1 saat tutulmuş, oda sıcaklığında soğutulmuş, aynı işlem tekrarlanmış, kaba filtre kağıdı ile süzülüş ve süzüntü 1 L'ye saf su ile tamamlanmış, 121°C'de 20 dk otoklavlandıktan sonra oda sıcaklığında soğutulmuştur (Provasoli vd., 1957).

Pseudanabaean sp. suşunun laboratuarda elde edilen kültüründe, ilk aşamada deney tüpleri kullanılmış takiben 50 mL'lik ve 250 mL'lik Duran Schott marka otoklavlanabilen şişeler kullanılmıştır. Tür deney tüpleri içinde 30°C oda sıcaklığında, beyaz ışık veren tasarruflu ampuller (Fujika 20W) altında 14 saat aydınlık 10 saat karanlık ortam şartlarında geliştirilmiştir (Şekil 3.2). Uygun hücre yoğunluğuna ulaşıncaya kadar deney tüplerindeki örnekler 50 mL'lik otoklavlanmış sızdırmaz kapaklı şeffaf şişelere aktarılmış ve aynı ortam şartlarında 100 rpm hızda çalışan orbital çalkalayıcıda tutularak örnekler çoğaltılmıştır. Takiben örnekler aynı şartlarda 250 mL'lik otoklavlanabilen şişelerde geliştirilmiştir. Bu aşamadan sonra örnekler otoklavlanmış, kapak kısmında hava girişi bulunan 1000 mL'lik şeffaf deney tüplerine aktarılmış ve gün boyu hava pompası ile hava verilerek gelişimleri izlenmiştir (Şekil 3.3). Havalandırmalı ortamdaki örnekler gün içerisinde en az 3 kez iyice çalkalanarak çökmenin önüne geçilmiştir. Yoğun üretim aşamasında ise 5000 mL'lik kapaklarıyla otoklavlanabilen şeffaf şişeler kullanılmıştır. Üretim aşamasında kontaminasyonların önüne geçmek amacıyla ortamlar, deney tüpleri, kapaklarıyla birlikte şeffaf şişeler ve havalandırmada kullanılan 2 mL'lik pipetler her aşamada 121°C'de 15 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir.



Şekil 3.2. JM ve BG 11 ortamlarında üretilmiş örnekler (Orjinal)



Şekil 3.3. Yoğun üretime alınmış alg örnekleri (Orjinal)

3.2.2. *Pseudanabaena* sp.'nin büyüme eğrisinin hesaplanması

3.2.2.1. Kuru ağırlık ölçümü

Farklı geliştirme ortamlarında çoğaltılan örneklerde kuru ağırlık ölçümünde sabit tartıma getirilmiş (1 saat 105°C') Whatman GF/C filtreler (0,45µm, 47mm) kullanılmıştır. Steril şartlarda üretim ortamından alınan 10 mL'lik örnekler GF/C filtrelerden süzildükten sonra tekrar etüvde 1 saat kurutularak sabit tartıma getirilmiştir (Şekil 3.4). Her bir üretim seti için dört paralel tekrar kurulmuş, ölçüm alınmış ve ortalama değerler sonuç olarak kullanılmıştır.



Şekil 3.4. Örneklerin süzülmesi ve tartımı (Orijinal)

3.2.2.2. Spektrofotometrik ölçümler

Pseudanabaena sp.'nin pik verdiği dalga boyu olan 590 nm'de ölçümler yapılmıştır (Şekil 3.5). Her bir üretim seti için dört paralel tekrar kurulmuş, ölçüm alınmış ve ortalama değerler sonuç olarak kullanılmıştır.



Şekil 3.5. Spektrofotometrede optik yoğunluğun ölçülmesi (Orijinal)

3.2.2.3. pH ölçümü

Hanna marka masa üstü pH metre ile üretim denemeleri boyunca günlük ölçümler yapılarak pH değişimi sürekli olarak takip edilmiştir.

3.2.3. Fikobiliproteinlerin özütlenmesi

Farklı ortamlarında yoğun üretim sonucu elde edilen *Pseudanabaena* sp. örnekleri 0,20µ göz açıklığındaki plankton bezinden süzülerek hasat edilmiştir. Hasat sonra yaş örnekler saf sudan geçirilerek iyice temizlenmiştir. Yaş mavi-yeşil alg örnekleri liyofilize (Virtis 6K, USA) edildikten sonra fikobiliproteinlerin özütlenmesine (ekstraksiyonu) geçilmiştir. Özütleme işlemi ultrasonik banyo (Elmosinic, Elma S120H, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yöntemin optimizasyonu için farklı tamponlar, özütleme süreleri ve ön işlemler kullanılarak en ideal yöntem belirlenmiştir.

3.2.3.1. Özütlemeye optimum tampon ve sürenin belirlenmesi

Ultrasonik banyo ile özütlemeye en ideal tampon çözeltisini belirlemek amacıyla Silveira vd., (2007)'de bildirilen; saf su, 10mM'lık fosfat tamponu (pH 7), 10mM'lık sodyum asetat tamponu (pH 5), 0,15M'lık sodyum klorür tamponu ve kalsiyum klorür tamponu (10 g/L CaCl₂) kullanılmıştır.

Ön çalışmada, BG 11 ortamında üretildikten sonra liyofilize edilmiş 0,1 g örnek hassas şekilde tartılmış, üzerine 25 mL ekstarksiyon çözeltisi ilave edilmiş ve vortekslenmiştir. Tüpler ultrasonik banyoda 4 saat homojenize edilmiş ve homojenizasyon işlemi sırasında her saat başı örnekler banyodan çıkartılmış, fikobiliprotein içeriğinin tespiti için UV-VIS spektrofotometre ile optik yoğunluklar ölçülmüştür.

Takip eden çalışmada ise BG 11 ortamında üretildikten sonra liyofilize edilmiş 0,1 g örnek hassas şekilde tartılmış, üzerine 25 mL ekstarksiyon çözeltisi ilave edilmiş ve vortekslenmiştir. Tüpler, buz aküleriyle soğutulmuş olarak sıcaklığın 30°C'nin üstüne çıkması engellenerek ultrasonik banyoda 3 saat homojenize edilmiş ve homojenizasyon işlemi sırasında her 20 dk'da örnekler ultrasonik banyodan çıkartılmış, 8 000 x g'de santrifüj (Hanil 22K, Kore) edildikten sonra alınan süpernatantlar fikobiliprotein içeriğinin tespiti UV-VIS spektrofotometrede optik yoğunluklar ölçülmüştür. Takiben örnekler liyofilize edilerek buzdolabında saklanmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Fikosiyaninin sıvı ve liyofilize edilmiş görüntüsü (Orijinal)

3.2.3.2. Fikobiliproteinlerin hesaplanması

Liyofilize *Pseudanabaena* sp.'nin fikobiliproteinlerin hesaplanmasında Bennett ve Bogorad (1973)'in bildirdiği eşitlikler kullanılmıştır. Liyofilize mavi-yeşil alg örneklerinin ekstraktları 8 000 x g'de santrifüj (Hanil 22K, Kore) edildikten sonra alınan süpernatantlar UV-VIS spektrofotometrede (PG Instruments, T80 UV-VIS Spektrofotometre) fikobiliproteinlerin maksimum optik yoğunluk gösterdiği dalga boylarında ki (280, 561, 620 ve 652 nm) absorbansları köre karşı ölçülmüş ve elde edilen verilerden PC, APC ve PE içerikleri (mg/mL), verim (mg/g) ve saflıklar hesaplanmıştır. Ekstrakte edilen sonunda bitirilmiş ve aşağıdaki denklemler kullanılarak fikosiyenin (PC), fikoeritrin (PE) ve allofikosiyenin (APC) içerikleri hesaplanmıştır. Patil vd., (2008) tarafından bildirildiği gibi PC, APC ve PE'nin saflık dereceleri maksimum absorbans gösterdiği değerlerin, toplam proteinlerin absorbans değerine bölümüyle elde edilmiştir (OD_{620}/OD_{280} , OD_{652}/OD_{280} , OD_{562}/OD_{280}). PC, APC ve PE'nin ekstarksiyon verimi ise sırasıyla 4., 5. ve 6. eşitliklerden hesaplanmıştır .

1. **PC (mg/mL)** = $(OD_{615}-0,474(OD_{652}))/5,34$
2. **APC (mg/mL)** = $(OD_{652}-0,208 \times OD_{615})/5,09$
3. **PE (mg/mL)** = $(OD_{562}-(2,41 \times PC)-(0,849 \times APC))/9,62$
4. **PC verim (mg/g)** = $[PC \text{ (mg/ml)} \times V] / \text{liyofilize biomas (g)}$
5. **APC verim (mg/g)** = $[APC \text{ (mg/ml)} \times V] / \text{liyofilize biomas (g)}$
6. **PE verim (mg/g)** = $[PE \text{ (mg/ml)} \times V] / \text{liyofilize biomas (g)}$

3.2.4. Esansiyel yağ asit analizleri

3.2.4.1. Mavi-yeşil alg'in metillenmesi ve analize hazırlanması

Mavi-yeşil alg petrol eteri: kloroform (80:20) çözücü karışımı ile 3 kez oda şartlarında özütlenmiştir. Üç ekstre birleştirilmiş ve çözücüsü vakumda uzaklaştırılarak kurutulmuştur. Kurutulan alg ekstresi (250 mg) 25 mL'lik deney tüpüne alınmış ve üzerine 10 mL petrol eteri eklenmiştir. Tüpler 5 dk karıştırıldıktan sonra üzerine 1.0 mL NaOH ve 1.0 mL BF₃:metanol reaktifi ilave edilmiştir. Tüpün

ağız kapatılarak 1 dk boyunca karıştırılmış ve 25 mL'ye doymuş NaCl ile tamamlanmıştır. Ayırma hunisine alınan karışım hekzan ile ekstre edilerek metillenmiş karışım elde edilmiştir. Daha sonra, hekzan rotary evaporatör kullanarak vakum altında uçurulmuştur. 20 mg/mL konsantrasyonda metillenmiş ekstre hekzan ile çözülerek, Macherey-Nagel Chromafil Xtra PTFE-20/25 0.20 µm filtreden süzülmesi ve GC ve GC/MSD cihazlarına 0,2'şer µL enjekte edilmiştir.

3.2.4.2. Gaz kromatografisi (GC) analizi

Alg örnekleri Shimadzu GC-17A marka gaz kromatografisi kullanılarak analiz edilmiştir. Bileşenlerinin % miktarları gaz kromatogramı kullanılarak Class GC10 programı ile hesaplanmıştır. Ayrıca bileşenlerin alıkonulma süreleri göz önüne alınarak ve Kovats indeks değerleri hesaplanarak karakterizasyon desteklenmiştir. Buna ilave olarak aynı şartlarda referans maddeler kolonda yürütülmüş ve alıkonulma zamanları ile karşılaştırılmıştır. Referans olarak kullanılan bileşiklerle alg aynı koşullarda yürütülerek pik karşılaştırma yöntemi ile bileşenlerin yapıları aydınlatılmıştır.

Çizelge 3.5. GC analiz şartları

Kolon	DB-1 kapiler kolon (30 m x 0.25mm, ID 0.25µm)
Dedektör	FID
Taşıyıcı Gaz	He
Yakıcı Gazlar	Yüksek saflıkta (%99.999) kuru hava ve hidrojen
Enjeksiyon sıcaklığı	250°C
Kolon sıcaklığı	Fırın sıcaklığı 100°C de 5 dakika bekletildi. Daha sonra 238°C ye 3°C/dk hızla çıkarıldı ve 238°C'de 9 dakika bekletildi
Dedektör sıcaklığı	270°C
Split oranı	1:20
Enjeksiyon miktarı	0.2µL

3.2.4.3. Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi (GC/MS) analizi

Metillenen alg ekstresi bileşenlerinin karakterizasyonu için ion trap analizörlü Varian 2100 GC-MSD ve bileşenlerin aydınlatılmasında Nist 2008 kütüphane verileri kullanılmıştır. Ayrıca bileşenlerin alıkonulma süreleri göz önüne alınarak ve kovats indeks değerleri hesaplanarak karakterizasyon desteklenmiştir. Buna ilave olarak aynı şartlarda standart maddeler kolonda yürütülmüş ve alıkonulma zamanları ile alg ekstresi bileşenleri karşılaştırılmıştır.

Çizelge 3.6. GC-MS analiz şartları

Kolon	DB-1 kapiler kolon (30 m x 0.25mm, ID 0.25µm)
Taşıyıcı Gaz	He
Enjeksiyon sıcaklığı	250°C
Kolon sıcaklığı	Fırın sıcaklığı 100°C de 5 dakika bekletildi. 238°C' ye 3°C/dk hızla çıkarıldı ve 238°C'de 9 dakika bekletildi.
Split Oranı	1:50
İyon Kaynağı sıcaklığı	150 °C
Elektron enerjisi	70 eV
Kütle aralığı	28-650 m/z
Scan aralığı	0.01
Enjeksiyon miktarı	0.2µL

3.2.5. İstatistikî analizler

Tüm denemeler 4 tekrarlı çalışmış olup analiz sonuçları ortalamalar ve standart sapma ile birlikte verilmiştir. Elde edilen analiz verileri SPSS 20,0 paket programında tek yöllü varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuş ve önemli görülen varyans kaynaklarında Duncun testi uygulanmıştır. İstatistikî analizlerde %95'lik güven seviyesine göre yapılmıştır ($p < 0.05$).

4.BULGULAR

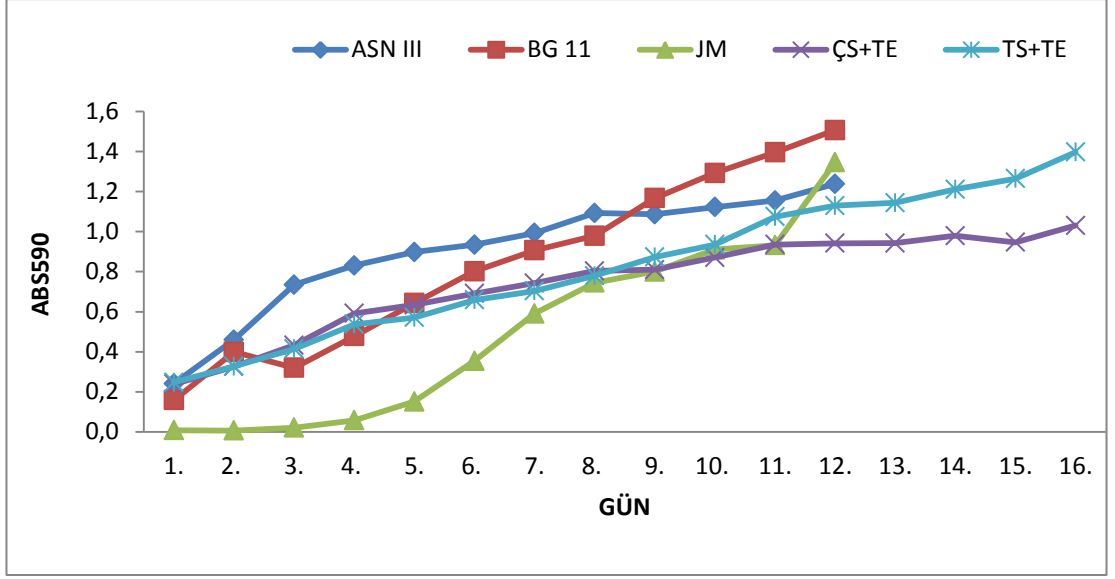
4.1. Optik Dansitite Ölçüm Sonuçları

Çalışmada kullanılan deneme gruplarının 590 nm'deki dalga boylarının optik yoğunluk ölçüm sonuçları Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de verilmiştir. Deneme başlangıcında optik yoğunluk ölçüm sonuçlarına göre en yoğun ortam TS+TE, en düşük ise JM ortamı olarak belirlenmiştir. Optik yoğunluk bakımından deneme başlangıcında en düşük olan BG 11 ortamı, istatistikî olarak önemli ($p>0,05$) artışla 12. günde en yüksek yoğunluğa ulaşmıştır. 1. günde en yüksek olan TS+TE ortamı ise istatistikî olarak önemli ($p>0,05$) artış göstermekle birlikte 16. güne kadar gelişimini sürdürerek yoğunluğu yaklaşık 1,40 seviyesine kadar yükseldiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Deneme gruplarının 590 dalga boyundaki optik yoğunluk ölçüm sonuçları

Gün	Gelişim Ortamları				
	ASN III ORT±S.S.*	BG 11 ORT±S.S.*	JM ORT±S.S.*	CS+TE ORT±S.S.*	TS+TE ORT±S.S.*
1.	0,241±0,008 ^{Ak}	0,159±0,014 ^{Bi}	0,009±0,006 ^{Cf}	0,238±0,004 ^{Al}	0,247±0,005 ^{An}
2.	0,460±0,048 ^{Aj}	0,399±0,042 ^{Bgh}	0,007±0,003 ^{Df}	0,326±0,006 ^{Ck}	0,327±0,006 ^{Cm}
3.	0,735±0,011 ^{Al}	0,320±0,006 ^{Dh}	0,021±0,007 ^{Ef}	0,433±0,008 ^{Bj}	0,414±0,006 ^{Cl}
4.	0,831±0,017 ^{Ah}	0,479±0,007 ^{Dg}	0,058±0,007 ^{Eef}	0,592±0,016 ^{Bi}	0,538±0,008 ^{Ck}
5.	0,897±0,024 ^{Ag}	0,643±0,016 ^{Bf}	0,152±0,012 ^{Def}	0,634±0,006 ^{Bh}	0,571±0,011 ^{Cj}
6.	0,935±0,027 ^{Af}	0,802±0,009 ^{Bc}	0,354±0,018 ^{Ede}	0,691±0,008 ^{Cg}	0,659±0,003 ^{Dj}
7.	0,993±0,017 ^{Ae}	0,907±0,015 ^{Bde}	0,591±0,023 ^{Ecd}	0,743±0,011 ^{Cf}	0,704±0,009 ^{Di}
8.	1,093±0,013 ^{Ac}	0,979±0,267 ^{Ad}	0,745±0,035 ^{Cbc}	0,803±0,014 ^{Ce}	0,779±0,013 ^{Ch}
9.	1,086±0,015 ^{Bd}	1,167±0,015 ^{Ac}	0,800±0,056 ^{Dbc}	0,810±0,009 ^{De}	0,873±0,012 ^{Cg}
10.	1,123±0,025 ^{Bc}	1,292±0,011 ^{Ab}	0,911±0,139 ^{Cb}	0,871±0,012 ^{Cd}	0,936±0,006 ^{Cf}
11.	1,155±0,020 ^{Bb}	1,396±0,027 ^{ABa}	0,932±0,177 ^{Cb}	0,936±0,005 ^{Cc}	1,074±0,024 ^{Be}
12.	1,238±0,013 ^{ABa}	1,507±0,016 ^{Aa}	1,347±0,648 ^{ABa}	0,941±0,016 ^{Bc}	1,129±0,024 ^{ABd}
13.				0,942±0,014 ^{Bc}	1,143±0,009 ^{Ad}
14.				0,979±0,007 ^{Bb}	1,211±0,011 ^{Ac}
15.				0,947±0,007 ^{Bc}	1,265±0,014 ^{Ab}
16.				1,030±0,011 ^{Ba}	1,397±0,011 ^{Aa}

*Sonuçlar 4 tekrarlı analizlerin ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir. Günlere bağlı olarak aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistikî olarak önemlidir ($P<0,05$). Gelişim ortamları arasında günlere bağlı aynı satırda farklı büyük harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistikî olarak önemlidir ($P<0,05$).



Şekil 4.1. Deneme gruplarının 590 dalga boyundaki optik yoğunluk ölçüm sonuçları

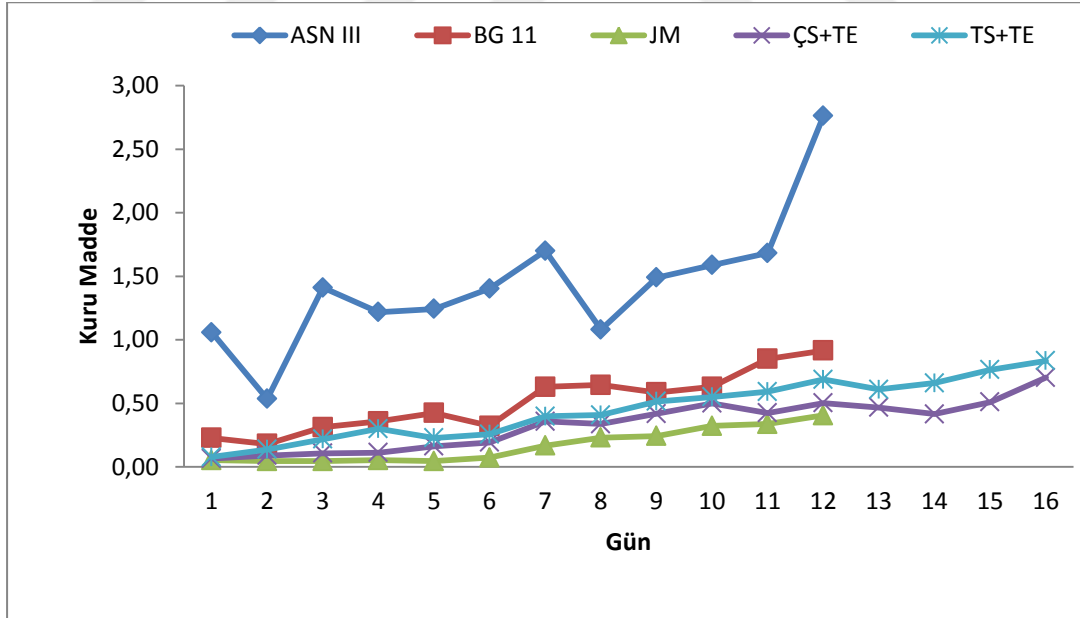
4.2. Kuru Ağırlık Ölçüm Sonuçları

Kuru ağırlık artışında; deneme başlangıcında gelişim ortamlarının içinde ASN III ortamının değeri önemli ($p>0,05$) oranda yüksek bulunmuştur. Deneme sonuna kadar yapılan ölçüm sonuçlarına göre; ASN III ortamı hariç, diğer tüm gelişim ortamlarında kısmen düzenli artışlar ($p>0,05$) görülmüştür (Çizelge 4.2). 12. günün sonunda en fazla artış ASN III ortamında belirlenmiştir (Şekil 4.2).

Çizelge 4.2. Kuru ağırlık ölçüm sonuçları (g/L)

GÜN	Gelişim Ortamları				
	ASN III	BG 11	JM	ÇS+TE	TS+TE
	ORT±S.S.*	ORT±S.S.*	ORT±S.S.*	ORT±S.S.*	ORT±S.S.*
1	1,058±0,260 ^{Ae}	0,228±0,099 ^{Bde}	0,052±0,015 ^{Be}	0,065±0,006 ^{B1}	0,077±0,030 ^{B1}
2	0,535±0,459 ^{Af}	0,180±0,050 ^{Be}	0,045±0,058 ^{Be}	0,090±0,029 ^{Bh1}	0,138±0,075 ^{Bh}
3	1,410±0,164 ^{Abcd}	0,313±0,057 ^{Bcde}	0,045±0,017 ^{Ce}	0,107±0,089 ^{Ch1}	0,218±0,147 ^{BCgh}
4	1,218±0,181 ^{Acde}	0,358±0,120 ^{Bcd}	0,053±0,033 ^{Ce}	0,113±0,034 ^{Ch1}	0,300±0,008 ^{Bfg}
5	1,243±0,071 ^{Acde}	0,425±0,057 ^{Bc}	0,045±0,013 ^{De}	0,163±0,056 ^{Cgh}	0,228±0,095 ^{Cgh}
6	1,403±0,121 ^{Abcd}	0,323±0,099 ^{Bcde}	0,073±0,013 ^{Ce}	0,193±0,103 ^{Bg}	0,258±0,169 ^{Bgh}
7	1,700±0,130 ^{Ab}	0,630±0,042 ^{Bb}	0,168±0,025 ^{Dd}	0,358±0,059 ^{Cef}	0,398±0,053 ^{Cf}
8	1,080±0,144 ^{Ade}	0,645±0,133 ^{Bb}	0,230±0,018 ^{Dc}	0,338±0,050 ^{CDf}	0,408±0,025 ^{Cf}
9	1,490±0,141 ^{Abc}	0,585±0,051 ^{Bb}	0,243±0,013 ^{Dc}	0,418±0,029 ^{CDef}	0,515±0,077 ^{BCe}
10	1,588±0,198 ^{Ab}	0,630±0,105 ^{Bb}	0,323±0,079 ^{Cb}	0,500±0,024 ^{Bcb}	0,550±0,039 ^{Bde}
11	1,683±0,215 ^{Ab}	0,850±0,082 ^{Ba}	0,338±0,043 ^{Db}	0,425±0,079 ^{CDcde}	0,592±0,083 ^{Ccde}
12	2,763±0,195 ^{Aa}	0,915±0,169 ^{Ba}	0,405±0,076 ^{Da}	0,503±0,026 ^{CDbc}	0,687±0,054 ^{Cbc}
13				0,468±0,040 ^{Bbcd}	0,610±0,070 ^{Acde}
14				0,415±0,042 ^{Bdef}	0,660±0,048 ^{Abcd}
15				0,510±0,022 ^{Bb}	0,765±0,066 ^{Aabc}
16				0,703±0,050 ^{Ba}	0,835±0,093 ^{Aa}

*Sonnular 4 tekrarlı analizlerin ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir. Günlere bağılı olarak aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistikî olarak önemlidir (P<0,05). Gelişim ortamları arasında günlere bağılı aynı satırda farklı büyük harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistikî olarak önemlidir (P<0,05).



Şekil 4.2. Kuru ağırlık ölçüm sonuçları

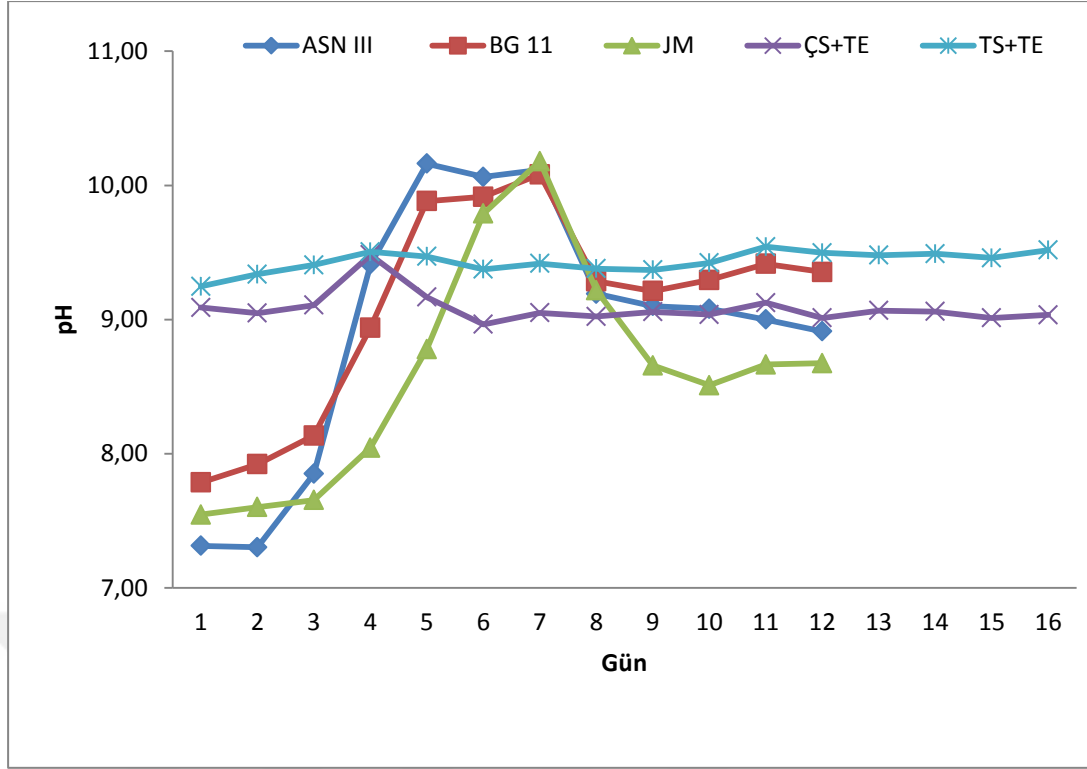
4.3. Deneme Gruplarının pH Değeri Ölçüm Sonuçları

Yapılan pH ölçüm sonuçlarına göre 1.günde 3 farklı gelişim ortamında (ASN III, BG 11, JM) pH 7-8 arasında, diğer iki ortamda ise kalan 2 grupta ise hemen 9'un üstünde ölçülmüştür. Denemenin 7. gününe gelindiğinde pH değeri ASN III, BG 11, JM gruplarında önemli ($p>0,05$) artışlarla pH 10'un üzerine çıktığı görülmüştür. Gelişim gruplarının tamamında en düşük pH 2.günde 7,30 ile ASN III ortamında, en yüksek ise 7. günde 10,18 ile JM ortamında ölçülmüştür. ÇS+TE ve TS+TE ortamlarında yapılan 16 günlük pH ölçüm sonuçlarına göre istatistikî olarak önemli ($p>0,05$) olmakla birlikte kısmen çok küçük dalgalanmalar gösterdiği saptanmıştır. BG 11 ortamında pH değeri başlangıçta 7,79 iken 7. günde istatistikî olarak önemli ($p>0,05$) artışla 10,08'e ve 12. günde ise önemli ($p>0,05$) düşüşle 9,36 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3, Şekil 4.3).

Çizelge 4.3. Deneme gruplarının pH değeri ölçüm sonuçları

Gün	Gelişim Ortamları				
	ASN III ORT±S.S.*	BG 11 ORT±S.S.*	JM ORT±S.S.*	ÇS+TE ORT±S.S.*	TS+TE ORT±S.S.*
1	7,31±0,04 ^{Ei}	7,79±0,01 ^{Ce}	7,55±0,01 ^{Dg}	9,09±0,02 ^{Bd}	9,25±0,01 ^{Aj}
2	7,30±0,04 ^{Ei}	7,92±0,02 ^{Cde}	7,60±0,02 ^{Dg}	9,05±0,01 ^{Bef}	9,34±0,00 ^{At}
3	7,85±0,08 ^{Dh}	8,14±0,02 ^{Cd}	7,66±0,04 ^{Eg}	9,11±0,02 ^{Bcd}	9,41±0,01 ^{Ag}
4	9,41±0,00 ^{Bc}	8,94±0,09 ^{Cc}	8,05±0,05 ^{Df}	9,48±0,01 ^{Aa}	9,51±0,01 ^{Abc}
5	10,16±0,07 ^{Aa}	9,88±0,25 ^{Ba}	8,78±0,02 ^{Ed}	9,17±0,00 ^{Db}	9,47±0,01 ^{Cef}
6	10,06±0,01 ^{Ab}	9,92±0,51 ^{Aa}	9,79±0,03 ^{Ab}	8,97±0,02 ^{Ci}	9,38±0,01 ^{Bef}
7	10,12±0,02 ^{Aab}	10,08±0,35 ^{Aa}	10,18±0,13 ^{Aa}	9,05±0,01 ^{Cef}	9,42±0,00 ^{Bg}
8	9,19±0,11 ^{ABd}	9,29±0,02 ^{ABb}	9,22±0,35 ^{ABc}	9,02±0,01 ^{Bgh}	9,38±0,01 ^{Ah}
9	9,10±0,07 ^{Cde}	9,21±0,01 ^{Bbc}	8,66±0,15 ^{Dde}	9,06±0,01 ^{Ce}	9,37±0,01 ^{Ah}
10	9,08±0,10 ^{Cef}	9,30±0,01 ^{Bb}	8,51±0,03 ^{De}	9,04±0,00 ^{Cfg}	9,42±0,01 ^{Ag}
11	9,00±0,01 ^{Dfg}	9,42±0,02 ^{Bb}	8,67±0,02 ^{Ede}	9,13±0,01 ^{Cc}	9,54±0,01 ^{Aa}
12	8,91±0,08 ^{Dg}	9,36±0,03 ^{Bb}	8,68±0,01 ^{Ede}	9,01±0,01 ^{Ch}	9,50±0,01 ^{Ac}
13				9,07±0,00 ^{Be}	9,48±0,02 ^{Ade}
14				9,06±0,0B ^{1e}	9,49±0,01 ^{Acđ}
15				9,01±0,01 ^{Bh}	9,46±0,01 ^{Af}
16				9,04±0,01 ^{Bfg}	9,52±0,00 ^{Ab}

*Sonuçlar 4 tekrarlı analizlerin ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir. Günlere bağlı olarak aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistikî olarak önemlidir ($P<0,05$). Gelişim ortamları arasında günlere bağlı aynı satırda farklı büyük harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistikî olarak önemlidir ($P<0,05$).



Şekil 4.3. Deneme gruplarının pH değeri ölçüm sonuçları

4.4. PC İçeriğinin Özütleme Tamponuna Bağlı Saatlik Değişimi

Ultrasonik banyoda PC'nin özütlenmesinde kullanılan tamponun türüne ve süreye bağlı olarak yapılan analiz sonuçlarına göre PC verimi, 1. saatte en düşük (mg/g) CaCl_2 tamponunda belirlenmişken, en yüksek ($p > 0,05$) miktar sodyum fosfat tamponunda tespit edilmiştir. Özütleme süresi arttıkça kullanılan tüm tamponlarda da verim değeri önemli ($p > 0,05$) azalışlar gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.4). Özütleme sonucunda elde edilen PC'nin saflık değeri incelendiği zaman en yüksek değer sodyum fosfat tamponundan 1. saatte bulunmuştur. Tüm tamponlar genel olarak değerlendirildiğinde hem tampon çeşidi hem de süre bazında saf su ve sodyum fosfat tamponlarında en yüksek içerik ve verim değerlerinin elde edildiği görülmektedir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. PC içeriğinin özütleme tamponuna bağlı saatlik değişimi

TAMPON		SAAT				
		1	2	3	4	
		PC±S.S.*	PC±S.S.*	PC±S.S.*	PC±S.S.*	
PC	Saf Su	(mg/ml)	0,177±0,001 ^{Ab}	0,052±0,001 ^{Ba}	0,050±0,004 ^{Ba}	0,040±0,000 ^{Ca}
		(mg/g)	44,283±0,154 ^{Ab}	12,915±0,349 ^{Ba}	12,395±0,899 ^{Ba}	10,043±0,101 ^{Ca}
		(A620/A280)	0,485±0,001 ^{Ab}	0,156±0,003 ^{Ca}	0,167±0,006 ^{Ba}	0,144±0,002 ^{Da}
	CaCl ₂	(mg/ml)	0,067±0,001 ^{Ad}	0,006±0,001 ^{Cd}	0,023±0,015 ^{Bc}	0,017±0,003 ^{BCd}
		(mg/g)	16,770±0,228 ^{Ad}	1,495±0,235 ^{Cd}	5,683±3,643 ^{Bc}	4,267±0,652 ^{BCd}
		(A620/A280)	0,309±0,002 ^{Ad}	0,054±0,006 ^{Cd}	0,102±0,046 ^{Bbc}	0,086±0,011 ^{BCc}
	Sodyum Fosfat	(mg/ml)	0,184±0,003 ^{Aa}	0,027±0,005 ^{Cb}	0,035±0,001 ^{Bb}	0,033±0,001 ^{Bb}
		(mg/g)	46,084±0,822 ^{Aa}	6,726±1,209 ^{Cb}	8,673±0,200 ^{Bb}	8,149±0,240 ^{Bb}
		(A620/A280)	0,537±0,002 ^{Aa}	0,102±0,001 ^{Cb}	0,121±0,003 ^{Bb}	0,117±0,003 ^{Bb}
	Sodyum Asetat	(mg/ml)	0,080±0,005 ^{Ac}	0,017±0,001 ^{Bc}	0,017±0,001 ^{Bc}	0,016±0,001 ^{Bd}
		(mg/g)	19,973±1,174 ^{Ac}	4,233±0,127 ^{Bc}	4,358±0,152 ^{Bc}	3,885±0,160 ^{Bd}
		(A620/A280)	0,323±0,002 ^{Ac}	0,065±0,002 ^{Dc}	0,081±0,002 ^{Bcd}	0,070±0,003 ^{Cd}
NaCl	(mg/ml)	0,070±0,002 ^{Ad}	0,018±0,001 ^{Cc}	0,017±0,001 ^{Cc}	0,020±0,000 ^{Bc}	
	(mg/g)	17,397±0,539 ^{Ad}	4,593±0,331 ^{BCc}	4,253±0,217 ^{Cc}	5,039±0,104 ^{Bc}	
	(A620/A280)	0,239±0,005 ^{Ae}	0,099±0,006 ^{Bb}	0,066±0,003 ^{Dd}	0,077±0,001 ^{Cd}	

*Soniclar 4 tekrarlı yapılan analizlerin ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı büyük harf ve aynı sütunda farklı küçük harf alan ortalamalar arasındaki farklılık istatistikî olarak önemlidir (P<0,05).

4.5. APC İçeriğinin Özütleme Tamponuna Bağlı Saatlik Değişimi

Ultrasonik banyoda APC'nin özütlenmesinde kullanılan tamponun türüne ve süreye bağlı olarak yapılan analiz sonuçlarına göre APC verimi (mg/g) 1. saatte en yüksek saf su tamponunda takiben sırasıyla; sodyum fosfat ve NaCl tamponlarında belirlenmiştir. Verim (mg/g) değeri, CaCl₂ tamponunda ise diğer tamponlardan önemli (p>0,05) oranda düşük bulunmuştur. İlerleyen saatlerde tüm tamponlarda çok belirgin bir düşüş görülmemektedir. Saflık açısından bakıldığında en yüksek saflığa sahip ürünün 1. saatte saf su tamponundan elde edildiğini, en düşük saflığa sahip ürünün ise 4. saatte sodyum asetat tamponunda olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.5. APC içeriğinin özütleme tamponuna bağlı saatlik değişimi

TAMPON		SAAT				
		1	2	3	4	
		APC±S.S.*	APC±S.S.*	APC±S.S.*	APC±S.S.*	
APC	Saf Su	(mg/ml)	0,080±0,001 ^{Aa}	0,047±0,002 ^{Ca}	0,056±0,011 ^{Ba}	0,051±0,001 ^{Ba}
		(mg/g)	19,956±0,244 ^{Aa}	11,626±0,448 ^{Ba}	13,898±2,875 ^{Ba}	12,729±0,132 ^{Ba}
		(A652/A280)	0,257±0,002 ^{Aa}	0,118±0,003 ^{Ca}	0,142±0,023 ^{Ba}	0,130±0,002 ^{Ca}
	CaCl ₂	(mg/ml)	0,014±0,001 ^{Be}	0,007±0,001 ^{Cd}	0,016±0,004 ^{Bcd}	0,021±0,004 ^{Ad}
		(mg/g)	3,513±0,258 ^{Be}	1,688±0,266 ^{Cd}	3,885±1,009 ^{Bcd}	5,267±0,881 ^{Ad}
		(A652/A280)	0,115±0,003 ^{Ae}	0,046±0,005 ^{Dc}	0,067±0,004 ^{Cc}	0,076±0,010 ^{Bc}
	Sodyum Fosfat	(mg/ml)	0,054±0,003 ^{Ab}	0,034±0,009 ^{Bb}	0,038±0,001 ^{Bb}	0,038±0,001 ^{Bb}
		(mg/g)	13,541±0,694 ^{Ab}	8,394±2,340 ^{Bb}	9,596±0,283 ^{Bb}	9,379±0,334 ^{Bb}
		(A652/A280)	0,231±0,004 ^{Ab}	0,091±0,021 ^{Bb}	0,101±0,003 ^{Bb}	0,100±0,003 ^{Bb}
	Sodyum Asetat	(mg/ml)	0,023±0,005 ^{Ad}	0,021±0,001 ^{Ac}	0,010±0,001 ^{Bd}	0,010±0,002 ^{Be}
		(mg/g)	5,625±1,312 ^{Ad}	5,319±0,160 ^{Ac}	2,403±0,134 ^{Bd}	2,539±0,396 ^{Be}
		(A652/A280)	0,136±0,010 ^{Ad}	0,059±0,002 ^{Bc}	0,047±0,002 ^{Cd}	0,045±0,005 ^{Cd}
NaCl	(mg/ml)	0,048±0,002 ^{Ac}	0,010±0,002 ^{Dd}	0,022±0,001 ^{Cc}	0,027±0,001 ^{Bc}	
	(mg/g)	12,120±0,617 ^{Ac}	2,584±0,440 ^{Dd}	5,602±0,302 ^{Cc}	6,781±0,165 ^{Bc}	
	(A652/A280)	0,158±0,005 ^{Ac}	0,059±0,006 ^{Cc}	0,060±0,003 ^{Ccd}	0,072±0,001 ^{Bc}	

*Sonuçlar 4 tekrarlı yapılan analizlerin ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı büyük harf ve aynı sütunda farklı küçük harf alan ortalamalar arasındaki farklılık istatistikî olarak önemlidir (P<0,05).

4.6. PE İçeriğinin Özütleme Tamponuna Bağlı Saatlik Değişimi

Yapılan çalışma sonuçlarına göre, fikoeritrin verimi (mg/g) için en yüksek değer ultrasonik banyoda özütlemenin 3. saatinde saf su tamponunda (6,804 mg/g) olduğu belirlenmiştir. Sodyum fosfat tamponu ile ultrasonik banyoda özütleme sırasında özütlemenin 3. saatine kadar süreye bağlı olarak önemli (p<0,05) artışlar saptanmıştır. Saflık açısından kıyaslandığında ise en yüksek değerlerin saf su ve sodyum fosfat tamponlarında olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. PE içeriğinin özütleme tamponuna bağlı saatlik değişimi

TAMPON		SAAT				
		1	2	3	4	
		PE±S.S.*	PE±S.S.*	PE±S.S.*	PE±S.S.*	
PE	Saf Su	(mg/ml)	0,016±0,001 ^{Da}	0,021±0,001 ^{Ca}	0,027±0,001 ^{Aa}	0,023±0,000 ^{Ba}
		(mg/g)	4,102±0,126 ^{Da}	5,218±0,202 ^{Ca}	6,804±0,335 ^{Aa}	5,794±0,056 ^{Ba}
		(A561/A280)	0,251±0,002 ^{Aa}	0,132±0,003 ^{Da}	0,162±0,006 ^{Ba}	0,140±0,002 ^{Ca}
	CaCl ₂	(mg/ml)	0,005±0,001 ^{Cc}	0,004±0,001 ^{Cd}	0,009±0,004 ^{Bd}	0,013±0,002 ^{Ad}
		(mg/g)	1,355±0,139 ^{Cd}	1,055±0,168 ^{Cd}	2,327±0,990 ^{Bd}	3,306±0,502 ^{Ad}
		(A561/A280)	0,160±0,004 ^{Ab}	0,062±0,007 ^{Cd}	0,091±0,005 ^{Bc}	0,101±0,012 ^{Bc}
	Sodyum Fosfat	(mg/ml)	0,009±0,001 ^{Cb}	0,016±0,000 ^{Bb}	0,021±0,001 ^{Ab}	0,021±0,001 ^{Ab}
		(mg/g)	2,170±0,314 ^{Cc}	3,948±0,094 ^{Bb}	5,374±0,137 ^{Ab}	5,194±0,162 ^{Ab}
		(A561/A280)	0,249±0,005 ^{Aa}	0,100±0,002 ^{Cb}	0,126±0,003 ^{Bb}	0,124±0,003 ^{Bb}
	Sodyum Asetat	(mg/ml)	0,005±0,003 ^{Bc}	0,013±0,000 ^{Ac}	0,005±0,000 ^{Be}	0,006±0,001 ^{Be}
		(mg/g)	1,309±0,710 ^{Bd}	3,180±0,077 ^{Ac}	1,165±0,081 ^{Be}	1,466±0,151 ^{Be}
		(A561/A280)	0,158±0,013 ^{Ab}	0,075±0,002 ^{Bc}	0,059±0,002 ^{Ce}	0,060±0,004 ^{Ce}
	NaCl	(mg/ml)	0,014±0,001 ^{Ba}	0,005±0,001 ^{Cd}	0,013±0,001 ^{Bc}	0,016±0,000 ^{Ac}
		(mg/g)	3,531±0,268 ^{Bb}	1,259±0,244 ^{Cd}	3,358±0,162 ^{Bc}	3,889±0,082 ^{Ac}
		(A561/A280)	0,152±0,005 ^{Ab}	0,074±0,007 ^{Cc}	0,077±0,003 ^{Cd}	0,089±0,001 ^{Bd}

* Sonuçlar 4 tekrarlı yapılan analizlerin ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı büyük harf ve aynı sütunda farklı küçük harf alan ortalamalar arasındaki farklılık istatistikî olarak önemlidir (P<0,05).

4.7. PC İçeriğinin Özütleme Tamponuna Bağlı Dakikalık Değişimi

PC içeriğine yönelik yapılan analiz sonuçlarına göre, ultrasonik banyoda özütleme işleminde kullanılan tüm tampon gruplarında 20. dk'dan 180. dk'ya kadar PC içeriğinde (mg/mL) önemli artışlar (p<0,05) belirlenmiş olmakla birlikte en yüksek değerler saf su ve sodyum fosfat tamponu ile özütlenmiş örneklerde tespit edilmiştir. En düşük PC içerik ve verim değerleri kalsiyum klorür tamponunda belirlenmiş olmasına rağmen en yüksek saflık bu tamponda, özütlemenin 100. dk.'da 1,219 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. PC içeriğinin özütleme tamponuna bağlı dakikalık değişimi

Dakika		TAMPONLAR				
		Saf Su	CaCl ₂	Sodyum Fosfat	Sodyum Asetat	NaCl
		PC±S.S.*	PC±S.S.*	PC±S.S.*	PC±S.S.*	PC±S.S.*
20	(mg/ml)	0,274±0,009 ^{Ad}	0,128±0,010 ^{BCh}	0,116±0,009 ^{Cg}	0,039±0,002 ^{Df}	0,142±0,021 ^{Bf}
	(mg/g)	68,546±2,248 ^{Ad}	32,105±2,622 ^{BCh}	28,903±2,192 ^{Cg}	9,650±0,418 ^{Df}	35,588±5,373 ^{Bf}
	(A620/A280)	0,854±0,009 ^{Bf}	0,968±0,022 ^{Ae}	0,674±0,015 ^{Dg}	0,415±0,002 ^{Ee}	0,724±0,020 ^{Cd}
40	(mg/ml)	0,301±0,002 ^{Ac}	0,177±0,004 ^{Bg}	0,161±0,019 ^{Bf}	0,041±0,000 ^{Ce}	0,174±0,020 ^{Be}
	(mg/g)	75,187±0,571 ^{Ac}	44,369±1,092 ^{Bg}	40,196±4,853 ^{Bf}	10,343±0,078 ^{Ce}	43,560±5,116 ^{Be}
	(A620/A280)	0,952±0,015 ^{Be}	1,097±0,010 ^{Ad}	0,751±0,032 ^{Cf}	0,427±0,002 ^{Dde}	0,736±0,035 ^{Cd}
60	(mg/ml)	0,325±0,005 ^{Ab}	0,205±0,005 ^{Bf}	0,202±0,020 ^{Be}	0,043±0,000 ^{Ced}	0,203±0,013 ^{Bd}
	(mg/g)	81,173±1,147 ^{Ab}	51,249±1,148 ^{Bf}	50,623±5,124 ^{Be}	10,706±0,054 ^{Ced}	50,651±3,233 ^{Bd}
	(A620/A280)	1,052±0,059 ^{Bdc}	1,140±0,034 ^{Ac}	0,825±0,036 ^{Ce}	0,435±0,004 ^{Dcb}	0,779±0,030 ^{Cdc}
80	(mg/ml)	0,326±0,007 ^{Ab}	0,216±0,003 ^{Ce}	0,231±0,016 ^{Bd}	0,044±0,001 ^{Ddc}	0,208±0,009 ^{Cd}
	(mg/g)	81,377±1,745 ^{Ab}	54,011±0,744 ^{Ce}	57,81±4,075 ^{Bd}	11,109±0,186 ^{Ddc}	52,002±2,156 ^{Cd}
	(A620/A280)	1,029±0,019 ^{Bd}	1,174±0,003 ^{Ab}	0,878±0,027 ^{Cd}	0,446±0,005 ^{Ea}	0,783±0,025 ^{Ddc}
100	(mg/ml)	0,339±0,007 ^{Aa}	0,226±0,003 ^{Cd}	0,277±0,013 ^{Bc}	0,045±0,001 ^{Dc}	0,230±0,012 ^{Cdc}
	(mg/g)	84,760±1,718 ^{Aa}	56,586±0,757 ^{Cd}	69,279±3,222 ^{Bc}	11,353±0,250 ^{Dc}	57,419±3,068 ^{Cdc}
	(A620/A280)	1,073±0,026 ^{Bcb}	1,219±0,040 ^{Aa}	0,976±0,026 ^{Cc}	0,446±0,003 ^{Ea}	0,818±0,031 ^{Dba}
120	(mg/ml)	0,344±0,002 ^{Aa}	0,236±0,003 ^{Dc}	0,300±0,004 ^{Bb}	0,046±0,002 ^{Ec}	0,251±0,015 ^{Ccb}
	(mg/g)	86,005±0,506 ^{Aa}	58,967±0,627 ^{Dc}	75,028±0,913 ^{Bb}	11,561±0,599 ^{Ec}	62,671±3,645 ^{Ccb}
	(A620/A280)	1,107±0,010 ^{Bba}	1,143±0,010 ^{Ac}	1,026±0,005 ^{Cb}	0,438±0,006 ^{Eba}	0,852±0,038 ^{Db}
140	(mg/ml)	0,344±0,002 ^{Aa}	0,256±0,004 ^{Bb}	0,327±0,005 ^{Aa}	0,049±0,001 ^{Bc}	0,255±0,032 ^{Bcb}
	(mg/g)	86,044±0,513 ^{Aa}	64,048±0,899 ^{Bb}	81,714±1,211 ^{Aa}	12,190±0,355 ^{Bc}	63,836±8,112 ^{Bcb}
	(A620/A280)	1,121±0,012 ^{Aa}	1,137±0,013 ^{Ac}	1,089±0,008 ^{Aa}	0,430±0,001 ^{Cdcb}	0,870±0,082 ^{Bba}
160	(mg/ml)	0,345±0,000 ^{Aa}	0,260±0,007 ^{Bb}	0,331±0,004 ^{Aa}	0,049±0,001 ^{Bc}	0,274±0,020 ^{Bba}
	(mg/g)	86,154±0,110 ^{Aa}	64,941±1,816 ^{Bb}	82,841±0,911 ^{Aa}	12,215±0,162 ^{Bc}	68,493±5,045 ^{Bba}
	(A620/A280)	1,099±0,024 ^{BAb}	1,136±0,002 ^{Ca}	1,091±0,010 ^{Aa}	0,424±0,008 ^{Dd}	0,916±0,053 ^{Ca}
180	(mg/ml)	0,345±0,003 ^{Aa}	0,269±0,005 ^{Ca}	0,339±0,004 ^{Aa}	0,052±0,001 ^{Da}	0,284±0,007 ^{Ba}
	(mg/g)	86,314±0,721 ^{Aa}	67,240±1,238 ^{Ca}	84,722±0,924 ^{Aa}	13,061±0,252 ^{Da}	71,059±1,850 ^{Ba}
	(A620/A280)	1,108±0,010 ^{BAb}	1,131±0,006 ^{Ac}	1,095±0,029 ^{Ba}	0,415±0,012 ^{De}	0,927±0,021 ^{Ca}

* Sonuçlar 4 tekrarlı yapılan analizlerin ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı büyük harf ve aynı sütunda farklı küçük harf alan ortalamalar arasındaki farklılık istatistikî olarak önemlidir (P<0,05).

4.8. APC İçeriğinin Özütleme Tamponuna Bağlı Dakikalık Değişimi

Çizelge 4.8'e göre, ultrasonik banyoda özütleme sırasında APC miktarında (mg/mL) tamponların tamamı için çok belirgin bir artış göze çarpmamaktadır. En yüksek APC verimi saf su ile ultrasonik banyoda özütlenmiş örneklerde 140. dk.'da (38,325 mg/g) tespit edilmiştir. APC içeriği tüm sürelerde saf su ile özütlenmiş örneklerde diğer tamponlardan önemli oranda yüksek ($p<0,05$) bulunmuştur. Saf su dan sonra yüksek değerler sodyum fosfat ve sodyum klorür tamponlarında özütlemenin 180. dk'sında belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. APC içeriğinin özütleme tamponuna bağlı dakikalık değişimi

Dak.		TAMPONLAR				
		Saf Su	CaCl ₂	Sodyum Fosfat	Sodyum Asetat	NaCl
		APC±S.S.*	APC±S.S.*	APC±S.S.*	APC±S.S.*	APC±S.S.*
20	(mg/ml)	0,092±0,005 ^{Ae}	0,018±0,001 ^{Cf}	0,038±0,004 ^{Bg}	0,009±0,001 ^{Dd}	0,043±0,009 ^{Be}
	(mg/g)	22,951±1,233 ^{Ae}	4,527±0,327 ^{Cf}	9,421±0,882 ^{Bg}	2,156±0,192 ^{Dd}	10,829±2,153 ^{Be}
	(A620/A280)	0,391±0,002 ^{Ae}	0,312±0,004 ^{Bd}	0,304±0,009 ^{Bf}	0,159±0,004 ^{Cb}	0,316±0,016 ^{Be}
40	(mg/ml)	0,109±0,001 ^{Ad}	0,027±0,001 ^{Ce}	0,053±0,007 ^{Bf}	0,010±0,001 ^{Ddc}	0,055±0,009 ^{Bd}
	(mg/g)	27,213±0,275 ^{Ad}	6,666±0,287 ^{Ce}	13,310±1,848 ^{Bf}	2,513±0,178 ^{Ddc}	13,827±2,203 ^{Bd}
	(A620/A280)	0,453±0,004 ^{Ad}	0,361±0,001 ^{Bc}	0,342±0,017 ^{Ce}	0,169±0,005 ^{Da}	0,328±0,022 ^{Ccd}
60	(mg/ml)	0,125±0,004 ^{Ac}	0,032±0,000 ^{Cd}	0,067±0,007 ^{Be}	0,010±0,000 ^{Ddc}	0,064±0,005 ^{Bdc}
	(mg/g)	31,198±0,876 ^{Ac}	8,065±0,106 ^{Cd}	16,735±1,848 ^{Be}	2,434±0,090 ^{Ddc}	16,020±1,278 ^{Bdc}
	(A620/A280)	0,515±0,033 ^{Ac}	0,381±0,013 ^{Bb}	0,375±0,018 ^{Cd}	0,168±0,001 ^{Dba}	0,347±0,016 ^{Cdc}
80	(mg/ml)	0,125±0,007 ^{Ac}	0,033±0,001 ^{Dd}	0,076±0,007 ^{Be}	0,010±0,001 ^{Edc}	0,065±0,003 ^{Cdc}
	(mg/g)	31,331±1,642 ^{Ac}	8,303±0,189 ^{Dd}	18,903±1,739 ^{Be}	2,545±0,239 ^{Edc}	16,345±0,691 ^{Cdc}
	(A620/A280)	0,504±0,017 ^{Ac}	0,389±0,001 ^{Bba}	0,397±0,016 ^{Bd}	0,172±0,005 ^{Da}	0,348±0,011 ^{Cdc}
100	(mg/ml)	0,143±0,010 ^{Ab}	0,033±0,000 ^{Dd}	0,092±0,006 ^{Bd}	0,010±0,001 ^{Edc}	0,072±0,005 ^{Cc}
	(mg/g)	35,728±2,614 ^{Ab}	8,372±0,110 ^{Dd}	23,079±1,510 ^{Bd}	2,426±0,149 ^{Edc}	18,063±1,148 ^{Cc}
	(A620/A280)	0,550±0,028 ^{Ab}	0,399±0,013 ^{Ca}	0,446±0,016 ^{Bc}	0,167±0,003 ^{Eba}	0,364±0,016 ^{Dcb}
120	(mg/ml)	0,151±0,008 ^{Aba}	0,039±0,001 ^{Dc}	0,104±0,002 ^{Bc}	0,011±0,002 ^{Ec}	0,083±0,006 ^{Cb}
	(mg/g)	37,736±1,942 ^{Aba}	9,756±0,261 ^{Dc}	25,953±0,570 ^{Bc}	2,690±0,426 ^{Ec}	20,658±1,455 ^{Cb}
	(A620/A280)	0,578±0,019 ^{Aba}	0,389±0,001 ^{Cba}	0,477±0,005 ^{Bb}	0,171±0,015 ^{Da}	0,387±0,019 ^{Cb}
140	(mg/ml)	0,153±0,008 ^{Aa}	0,044±0,002 ^{Db}	0,126±0,006 ^{Bb}	0,012±0,001 ^{Eb}	0,098±0,010 ^{Ca}
	(mg/g)	38,325±2,031 ^{Aa}	11,049±0,426 ^{Db}	31,611±1,559 ^{Bb}	3,095±0,286 ^{Eb}	24,433±2,587 ^{Ca}
	(A620/A280)	0,590±0,020 ^{Aa}	0,393±0,003 ^{Da}	0,534±0,013 ^{Ba}	0,174±0,005 ^{Ea}	0,425±0,016 ^{Ca}
160	(mg/ml)	0,148±0,003 ^{Aba}	0,046±0,002 ^{Dba}	0,130±0,004 ^{Bb}	0,013±0,001 ^{Eb}	0,094±0,009 ^{Ca}
	(mg/g)	36,962±0,733 ^{Aba}	11,386±0,412 ^{Dba}	32,550±1,048 ^{Bb}	3,134±0,243 ^{Eb}	23,605±2,181 ^{Ca}
	(A620/A280)	0,568±0,013 ^{Aba}	0,395±0,002 ^{Da}	0,540±0,010 ^{Ba}	0,172±0,004 ^{Ea}	0,425±0,028 ^{Ca}
180	(mg/ml)	0,150±0,004 ^{Aba}	0,047±0,002 ^{Da}	0,141±0,011 ^{Ba}	0,015±0,001 ^{Ea}	0,103±0,003 ^{Ca}
	(mg/g)	37,447±0,924 ^{Aba}	11,714±0,446 ^{Da}	35,205±2,678 ^{Ba}	3,713±0,291 ^{Ea}	25,679±0,748 ^{Ca}
	(A620/A280)	0,576±0,009 ^{Aba}	0,392±0,001 ^{Ca}	0,557±0,031 ^{Aa}	0,176±0,004 ^{Da}	0,440±0,010 ^{Ba}

* Sonuçlar 4 tekrarlı yapılan analizlerin ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı büyük harf ve aynı sütunda farklı küçük harf alan ortalamalar arasındaki farklılık istatistikî olarak önemlidir ($P<0,05$).

4.9. PE İçeriğinin Özütleme Tamponuna Bağlı Dakikalık Değişimi

Yapılan analiz sonuçlarına göre CaCl₂ tamponunda tüm özütleme süreleri için PE içeriği ve verim değerine yönelik hesaplamalarda negative değerler bulunmuştur. En yüksek PE verimi saf su ile ultrasonik banyoda özütlelenmiş örneklerde 140. dk.'da (5,270 mg/g) tespit edilmiştir (Çizelge 4.9). Saf su tamponunda, 20.dk'dan 100. dk'ya kadar önemli (p<0,05) artışlar, 100'üncü dk'dan sonra ise önemsiz (p>0,05) değişimler belirlenmiştir. Sodyum fosfat, sodyum asetat ve sodyum klorür tamponlarında ultrasonik banyoda özütleme sırasında en yüksek PE verimi sırasıyla 180, 180 ve 140. dk.'larda tespit edilmiştir.

Çizelge 4.9. PE içeriğinin özütleme tamponuna bağlı dakikalık değişimi

Dak.		TAMPONLAR				
		Saf Su	CaCl ₂	Sodyum Fosfat	Sodyum Asetat	NaCl
		PE±S.S.*	PE±S.S.*	PE±S.S.*	PE±S.S.*	PE±S.S.*
20	(mg/ml)	0,006±0,002 ^{Ac}	-0,005±0,001 ^{Da}	0,003±0,000 ^{Bc}	0,001±0,000 ^{Cc}	0,006±0,001 ^{Ac}
	(mg/g)	1,618±0,378 ^{Ac}	-1,166±0,171 ^{Da}	0,796±0,051 ^{Bc}	0,348±0,070 ^{Cc}	1,407±0,267 ^{Ac}
	(A620/A280)	0,366±0,003 ^{Ae}	0,335±0,003 ^{Bd}	0,293±0,004 ^{Cf}	0,187±0,004 ^{Dc}	0,328±0,009 ^{Bd}
40	(mg/ml)	0,010±0,002 ^{Ab}	-0,007±0,000 ^{Eb}	0,003±0,001 ^{Cc}	0,002±0,000 ^{Dc}	0,007±0,001 ^{Bcb}
	(mg/g)	2,483±0,404 ^{Ab}	-1,822±0,040 ^{Eb}	0,853±0,132 ^{Cc}	0,461±0,089 ^{Dc}	1,770±0,339 ^{Bcb}
	(A620/A280)	0,419±0,001 ^{Ad}	0,372±0,001 ^{Bc}	0,319±0,013 ^{Ce}	0,198±0,004 ^{Db}	0,334±0,018 ^{Cd}
60	(mg/ml)	0,013±0,001 ^{Ab}	-0,008±0,001 ^{Ec}	0,003±0,000 ^{Cc}	0,002±0,000 ^{Dc}	0,007±0,000 ^{Bcb}
	(mg/g)	3,308±0,229 ^{Ab}	-2,097±0,128 ^{Ec}	0,751±0,037 ^{Cc}	0,397±0,056 ^{Dc}	1,763±0,124 ^{Bcb}
	(A620/A280)	0,474±0,029 ^{Ac}	-0,009±0,000 ^{Dd}	0,343±0,014 ^{Cd}	0,197±0,001 ^{Db}	0,347±0,013 ^{Cdc}
80	(mg/ml)	0,013±0,002 ^{Ab}	-0,009±0,000 ^{Dd}	0,003±0,001 ^{Cc}	0,002±0,000 ^{Cc}	0,006±0,000 ^{Bc}
	(mg/g)	3,128±0,470 ^{Ab}	-2,355±0,062 ^{Dd}	0,723±0,198 ^{Cc}	0,384±0,107 ^{Cc}	1,597±0,115 ^{Bc}
	(A620/A280)	0,460±0,015 ^{Ac}	0,393±0,002 ^{Bba}	0,363±0,013 ^{Cd}	0,200±0,005 ^{Eba}	0,344±0,007 ^{Ddc}
100	(mg/ml)	0,018±0,003 ^{Aa}	-0,011±0,000 ^{De}	0,002±0,001 ^{Cc}	0,001±0,000 ^{Cc}	0,006±0,000 ^{Bc}
	(mg/g)	4,459±0,822 ^{Aa}	-2,662±0,086 ^{De}	0,514±0,208 ^{Cc}	0,327±0,058 ^{Cc}	1,524±0,033 ^{Bc}
	(A620/A280)	0,498±0,023 ^{Ab}	0,402±0,014 ^{Ba}	0,396±0,014 ^{Bc}	0,197±0,002 ^{Db}	0,355±0,011 ^{Cc}
120	(mg/ml)	0,020±0,003 ^{Aa}	-0,010±0,000 ^{Dd}	0,004±0,001 ^{Cc}	0,002±0,000 ^{Cc}	0,008±0,000 ^{Bcb}
	(mg/g)	5,087±0,724 ^{Aa}	-2,393±0,096 ^{Dd}	0,879±0,219 ^{Cc}	0,440±0,111 ^{Cc}	1,954±0,034 ^{Bcb}
	(A620/A280)	0,522±0,016 ^{Aba}	0,388±0,001 ^{Cb}	0,422±0,006 ^{Bb}	0,199±0,003 ^{Db}	0,374±0,014 ^{Cb}
140	(mg/ml)	0,021±0,003 ^{Aa}	-0,009±0,001 ^{Dd}	0,009±0,002 ^{Bb}	0,002±0,000 ^{Cb}	0,013±0,008 ^{Ba}
	(mg/g)	5,272±0,794 ^{Aa}	2,273±0,151 ^{Dd}	2,246±0,523 ^{Bb}	0,610±0,112 ^{Cb}	3,207±1,969 ^{Ba}
	(A620/A280)	0,532±0,018 ^{Aa}	0,394±0,003 ^{Cba}	0,470±0,012 ^{Ba}	0,202±0,005 ^{Dba}	0,403±0,010 ^{Ca}
160	(mg/ml)	0,019±0,001 ^{Aa}	-0,009±0,000 ^{Edc}	0,011±0,001 ^{Bb}	0,003±0,000 ^{Db}	0,009±0,000 ^{Cba}
	(mg/g)	4,806±0,300 ^{Aa}	-2,246±0,092 ^{Edc}	2,648±0,349 ^{Bb}	0,626±0,104 ^{Db}	2,198±0,122 ^{Cba}
	(A620/A280)	0,515±0,012 ^{Aba}	0,395±0,002 ^{Cba}	0,477±0,009 ^{Ba}	0,200±0,002 ^{Dba}	0,403±0,022 ^{Ca}
180	(mg/ml)	0,020±0,002 ^{Aa}	-0,009±0,000 ^{Ddc}	0,013±0,004 ^{Ba}	0,004±0,001 ^{Ca}	0,011±0,001 ^{Bba}
	(mg/g)	4,912±0,409 ^{Aa}	-2,247±0,103 ^{Ddc}	3,371±1,067 ^{Ba}	0,877±0,136 ^{Ca}	2,710±0,185 ^{Bba}
	(A620/A280)	0,520±0,009 ^{Aba}	0,396±0,001 ^{Cba}	0,489±0,028 ^{Ba}	0,205±0,004 ^{Dd}	0,415±0,007 ^{Ca}

* Sonuçlar 4 tekrarlı yapılan analizlerin ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı büyük harf ve aynı sütunda farklı küçük harf alan ortalamalar arasındaki farklılık istatistikî olarak önemlidir (P<0,05).

4.10. Liyofilize Alg Örneğinin Esansiyel Yağ Asidi İçeriği

BG 11 ortamında üretildikten sonra liyofilize edilmiş *Pseudanabaena* sp., örneklerinde en düşük yağ asidi içeriği miristik asit olurken en yüksek palmitik asit olduğu saptanmıştır. Türün esansiyel yağ asidi içeriğinde % 42,41 ile doymuş, %57,58 ile doymamış yağ asidi oranına sahip olduğu tespit edilmiştir. Yağ asidi içeriğinde yüzde konsantrasyon bakımından en yüksek değerler sırasıyla; palmitik asit, oleik asit, palmitoleik asit ve linoleik asit olduğu Çizelge 4.13’de görülmektedir.

Çizelge 4.10. BG 11 ortamında üretilmiş örneğin esansiyel yağ asidi içeriği

Pik No	Alınma Zamanı (dk)	Yağ Asitleri	Konsantrasyon (%)
1	26,794	Myristic acid (C14:0)	0,3
2	29,193	Pentadecanoic acid (C15:0)	0,42
4	33,131	Palmitoleic acid (C16:1)	11,6
5	33,951	Palmitic acid (C16:0)	40,74
6	39,216	Linoleic acid (C18:2)	6,91
7	39,541	Oleic acid (C18:1)	38,38
8	40,522	Stearic acid (C18:0)	0,95
9	44,082	Arachidonic acid (C20:4)	0,69
Doymuş			42,41
Doymamış			57,58
Toplam tanımlanan			99,99

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Mavi-yeşil alglerden elde edilen fikobiliproteinler, gelişmiş ülkelerde gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisi ihtiyaçlarını karşılama amacı ile yüksek katma değere sahip ürünlerin eldesinde kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan pek çok çalışmada mavi-yeşil alglerin yüksek besinsel içeriği yanı sıra içerdikleri fikobilinproteinleri nedeniyle bağışıklık sistemi destekleyici antioksidant, antiviral, anti-inflamatuar, anti-kanser ve anti-diabetik etkileri ortaya çıkarılmıştır (Qureshi ve Ali, 1996 a,b; Romay vd., 1998; Liu vd., 2000; Gantar vd., 2012). Bu kapsamda, pek çok mavi-yeşil algden fikosiyanın ve fikoeritrinin ekstrakte edilmiş ve saflaştırılmıştır (Eriksen, 2008; Demirel vd., 2012; Gantar vd., 2012). Patil vd. (2006) ve Singh vd. (2009) tarafından da bildirildiği gibi mavi-yeşil alglerden çok azı yüksek miktarda fikobiliprotein içeriğine sahip oldukları ve saflaştırma aşamasında önemli kayıplar ortaya çıktığından dolayı daha yüksek verimli suşlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada Denizli İli Sarayköy İlçesi sınırlarında bulunan termal sudan izole edilmiş *Pseudanabaena* sp. suşunun ideal üretim şartlarının ve liyofilize alg örneklerinden fikobiliproteinlerin eldesinde kullanım olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır.

Pseudanabaena sp. türü için ideal üretim şartlarını belirlemek amacıyla mavi-yeşil alg üretiminde yoğun olarak kullanılan geliştirme ortamları olan ASN III, BG 11 ve JM ortamlarıyla birlikte, üretim maliyetlerini minimum düşürmek gayesi ile algin izole edildiği tesisten alınan termal turba çamurundan elde edilen toprak ekstresi ile zenginleştirilmiş çeşme suyu ve termal su ortamlarında da algin gelişimi çalışılmıştır. İlk üç ortamda 12 günlük gelişim sonrası kültürün göçmeye başlaması nedeniyle ölçümler sonlandırılmışken diğer iki ortamda gelişim 16. güne kadar takip edilmiştir. Türün 590 nm dalga boyunda günlük yapılan optik yoğunluk ölçümleri sonucunda en yüksek değer 12. günde BG 11 ortamında elde edilmiş, BG 11 ortamını JM ve ASN III ortamlarının takip ettiği saptanmıştır. Optik yoğunluk değeri bakımından TS+TE ortamı ise ancak 16 gün sonunda JM ve ASN III ortamını geçmiş, BG 11'in değerinden hala düşük değer tespit edilmiştir. (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1). Çalışmamıza benzer şekilde, Tamburacı (2009) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, *Pseudanabaena* sp. türünün termal su, termal su ile hazırlanmış BG 11 ve ASN III ortamlarındaki gelişimi incelenmiş, 14 günlük çalışma sonuçlarına göre

termal BG 11 ve ASN III ortamlarının absorbans değerlerinin birbirine yakın olduğu, termal su ortamının ise dūřuk olduğu saptanmıştır.

Kūltürlerde gūnlük yapılan kuru aęırlık ōlçūm çalıřması sonuçlarına gōre; gūnler arasında dūzensiz dalgalanmalar gōrūlmekle birlikte deęerler ASN III ortamında tespit edilmiřtir. Bu dūzensizlięin temel sebebinin tūrūn koloni oluřturma eęilimi nedeniyle ōrnek alım iřleminin istenilen homojenlikte yapılamamasından kaynaklandıęı dūřūnūlmektedir. Kuru aęırlık ōlçūm sonuçlarına gōre ASN III ortamını sırasıyla BG 11, TS+TE, ÇS+TE ve JM ortamı takip ettięi saptanmıřtır. 12 gūnlük ūretim sonunda kuru aęırlık ASN III ortamında 2,76 g/L, BG 11 ortamında 0,91 g/L, TS+TE ortamında 0,69 g/L, ÇS+TE ortamında 0,50 g/L ve JM ortamı ise 0,41 g/L olarak belirlenmiřtir (Çizelge 4.2 ve Őekil 4.2). Bulgularımıza benzer Őekilde, Tamburacı (2009) tarafından 30°C havalandırmalı ūretim setinde yapılan çalıřmada 14 gūnlük ūretim sonunda kuru aęırlıklar termal su ile hazırlanmıř BG 11 ortamı için kuru aęırlık deęeri 1,334 g/L iken, ASN III ortamı için bu deęer 2.72 g/L olarak bildirilmiřtir.

Deneme boyunca gūnlük yapılan pH analiz sonuçlarına gōre ASN III, JM ve BG 11 ortamlarının pH deęeri deneme bařında 7-8 aralıęında iken 5. gūne kadar ani bir artıřla 10 civarına yūkselmiř, 7. gūnden itibaren ani bir dūřūřle 12. gūnde sırasıyla 8,91, 8,68 ve 9,36 deęerine dūřmūřtūr. Bu durumun aksine toprak ekstresi ile zenginleřtirilmiř her iki ortamda ise deneme bařlangıcındaki pH (9,09-9,25) deęeri kūuk deęiřimlerle 16. gūne kadar korunmuřtur (Çizelge 4.3 ve Őekil 4.3). Benzer Őekilde Tamburacı (2009) tarafından da 14 gūnlük deneme boyunca termal su ve termal su ile hazırlanmıř BG 11 ortamının pH deęeri ōnemsiz deęiřimlerle 9-9,3 aralıęında, ASN III ortamının ise 7,9-8,7 aralıęında deęiřtięi bildirilmiřtir.

Tūrūn farklı ortamlardaki geliřim dūzeyine yōnelik yapılan çalıřma sonuçlarına gōre en iyi sonuçlar ASN III ve BG 11 ortamı için elde edilmiřtir. Őzellikle BG 11 ortamında geliřiminde tūrūn būyūk koloniler oluřturduęu ve rengin dięer ortamlara gōre daha parlak koyu yeřil renk aldıęı gōzlenmiřtir. Bu gōzlemi optik yoęunluk ōlçūm sonuçlarıda destekler niteliktedir. Bu nedenle yoęun ūretim çalıřması BG 11 ortamı kullanılarak gerçekleřtirilmiřtir. JM ortamında geliřen ōrnekler dięer ortamlardan farklı olarak koloni oluřturma eęiliminin çok dūřuk olduęu saptanmıřtır.

TM+TE ortamında türün gelişim hızı yavaş olmakla birlikte ASN III ve BG 11 ortamları ile sarf maliyeti bakımından karşılaştırıldığı zaman çok düşük sarf maliyeti ile üretimde başarılı sonuçlar elde edilebileceği tarafımızca belirlenmiştir.

Türün gelişimi için ideal ortamlardan biri olan BG 11 ortamında yoğun üretim çalışması sonucu elde edilen *Pseudanabena* sp., 0,20µm göz açıklığındaki plankton kepçesinden bol saf su ile süzülerek hasat edilmiştir. Hasat edilen örnekler -80°C'de dondurulmuş ve dondurulan örnekler liyofilize edildikten sonra sızdırmaz kapaklı cam kavonozlar içinde +4°C'de özütleme çalışmaları için depolanmıştır. Türden fikobiliproteinlerin özütlenmesinde ultrasonik banyo kullanılmıştır.

Türün ultrasonik banyo kullanılarak özütlenmesinde en ideal tamponun ve sürenin belirlenmesine yönelik yapılan ön çalışmada liyofilize örnekler her tampon ile ayrı ayrı 25 kat sulandırılmış ve herhangi bir soğutma işlemi uygulamadan 4 saat tutulmuş ve bu süre içerisinde her saat başı örnek alınarak fikobiliprotein içerikleri hesaplanmıştır. Yapılan bu ön çalışma sonuçlarına göre PC ve APC miktarlarında 1 saatlik özütleme sonrası önemli düşüşler gözlenmiştir (Çizelge 4.4,5). Bu düşüşün temel sebebi olarak, örneklerin ultrasonik banyoda tutulması sırasında oluşan ısının fikobiliproteinlere zarar vermesi sonucunda gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu sonuç ışığında daha sağlıklı sonuçlar elde edebilmek amacıyla ultrasonik banyo buz aküleriyle soğutularak sıcaklığın 30°C'nin üstüne çıkmasının önüne geçilmiş ve her 20 dk'da bir örnek alınarak fikobiliprotein içerikleri hesaplanmıştır. Bu çalışma sonuçlarına göre başlangıçta saf su, kalsiyum klorür, sodyum fosfat, sodyum asetat ve sodyum klorür tamponlarında PC içeriği sırasıyla 0,274 mg/mL, 0,128 mg/mL, 0,116 mg/mL, 0,039 mg/mL ve 0,142 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Takip eden sürelerde tüm tamponlarda da PC içeriğinin süreye bağlı olarak düzenli artışlar gösterdiği saptanmış, en yüksek değerler 180. dk'da sırasıyla 0,345 mg/mL, 0,269 mg/mL, 0,339 mg/mL, 0,052 mg/mL ve 0,284 mg/mL olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.7). Bu sonuçlar ışığında en yüksek verim saf su ve fosfat tampon ile özütlenen örneklerde elde edilmiştir. Ayrıca soğutulmuş şartlarda ultrasonik banyo kullanılarak yapılan özütleme işlemi PC içeriği artışında pozitif etki gösterdiği belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarımızın aksine, Tamburacı (2009) tarafından termal sulardan izole edilmiş *Pseudanabaena* sp. türünün PC içeriği fosfat tampon ile özütleme sonucunda ham özütte 0,150 mg/mL, liyofilize örnekte ise 0,158 mg/mL olarak tespit edilmiştir.

Benzer şekilde, deniz orjinli *Pseudanabaena* sp.'den yüksek saflıkta PE özütlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada da ham özütün PC içeriği bizim bulgularımızdan farklı olarak 0,013 mg/mL seviyesinde bulunmuştur (Mishra, Shrivastav ve Mishra, 2011). Deniz orjinli *Pseudanabaena* sp.'nin PC içeriği üzerine ışık kalitesinin etkisinin çalışıldığı bir araştırmada PC içeriği 0,0021-0,014 mg/mL aralığında bulunmuş, en yüksek değer kırmızı ışık kaynağında elde edilmiştir (Mishra vd. 2012). Elde edilen bulgularımızla mevcut çalışmalar arasında görülen farklılıkların sebepleri olarak özütleme şartları, yöntem farklılıkları ve organizmanın orjinlerindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

PC içeriği, *S. platensis*, *Oscillatoria amphibia*, *Anabaena marina* ve *Grateloupia turuturu* gibi birçok mavi-yeşil alg türünden ekstrakte edilmiş ve saflaştırılmıştır (Patil vd., 2006; Silveira vd., 200; Oliveira vd., 2008; Patil vd., 2008; Duangsee vd., 2009; Silva vd., 2009; Moraes vd., 2010; Ramos vd., 2010; Demirel vd., 2012; Liu vd. 2012; Ökmen ve Türkcan, 2013). Moraes vd., (2011) tarafından *S. platensis*'in yaş biomasından 50 kHz'lik 40 dk'lık ultrasonik banyoda yapılan PC özütlenmesine yönelik çalışmalarında PC verimi 0,57 mg/g (ultrasonik banyoda) 43.75 mg/g (cam bilye ile birlikte ultrasonik banyoda) aralığında belirlenmiştir. Mevcut çalışmamızda ise maksimum verim 180. dk'da saf su ile özütlenen örneklerde 86,314 mg/g olarak bulunmuştur (Çizelge 4.7). Demirel vd., (2012) tarafından *Oscillatoria amphibia* ve *S. platensis*'in PC içeriği üzerine yapılan çalışmada, 25 kat 0,15M NaCl ise çözündürülmüş liyofilize örnekler dondurulmuş, 1 saat ultrasonik banyoda çözündürüldükten sonra 1 gece 4°C'de bekletilmiştir. Örneklerin PC içeriği sırasıyla 140 mg/mL ve 71,35 mg/mL olarak tespit edilmiştir.

Ultrasonik banyo kullanarak fikobiliproteinlerin özütlenmesine yönelik çalışma sonuçlarına göre deneme başında saf su, kalsiyum klorür, sodyum fosfat, sodyum asetat ve sodyum klorür tamponlarında APC içeriği sırasıyla 0,092 mg/mL, 0,018 mg/mL, 0,038 mg/mL, 0,009 mg/mL ve 0,043 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Takip eden sürelerde sodyum asetat tampon hariç diğer tamponlarda da APC içeriğinin süreye bağlı olarak düzenli artışlar gösterdiği saptanmıştır. Maksimum değerler saf suda 140. dk. 0,153 mg/mL, diğerlerinde ise 180. dk. sırasıyla 0,047 mg/mL, 0,141 mg/mL, 0,015 mg/mL ve 0,103 mg/mL olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.8). Bu sonuçlar ışığında en yüksek verim saf su ve fosfat tampon ile özütlenen örneklerde

elde edilmiştir. Ayrıca soğutulmuş şartlarda ultrasonik banyo kullanılarak yapılan özütlenme işlemi APC içeriği artışında pozitif etki gösterdiği belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarımızın aksine, deniz orjinli *Pseudanabaena* sp.'den yüksek saflıkta PE özütlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada da ham özütün APC içeriği bizim bulgularımızdan farklı olarak 0,038 mg/mL seviyesinde bulunmuştur (Mishra, Shrivastav ve Mishra, 2011). Elde edilen bulgularımızla mevcut çalışma arasında görülen farklılığın sebebi olarak APC'nin özütlenme şartları, yöntem farklılıkları ve organizmanın orjin farklılığı olduğu düşünülmektedir.

APC içeriği, *Anabaena* sp., *S. platensis*, *Anabaena marina* gibi mavi-yeşil alglerden türlerinden ekstrakte edilmiştir (Patil vd., 2008; Ramos vd., 2010; Yan vd., 2011; Liu vd., 2012; Ökmen ve Türkcan, 2013). Yan vd., (2011)'nin *S. platensis*'den yüksek saflıkta PC ve APC eldesine yönelik çalışmalarında APC verimi 19,75 mg/g, saflık ise 0,37 olarak belirlenmiştir. Ökmen ve Türkcan (2013) tarafından *Anabaena* sp.'nin pigment içerikleri üzerine glukoz ve sukrozun etkisini belirlemeye yönelik yapmış oldukları çalışmalarında maksimum APC 40mM sukroz ile muamele edilen örneklerde 0,08 mg/mL, 20mM glukoz ile muamele edilen örneklerde ise 0,05 mg/mL olarak belirlenmiştir.

Ultrasonik banyo kullanarak fikobiliproteinlerin özütlenmesine ilişkin sonuçlara göre deneme başında saf su, sodyum fosfat, sodyum asetat ve sodyum klorür tamponlarında PE içeriği sırasıyla 0,006 mg/mL, 0,003 mg/mL, 0,001 mg/mL ve 0,006 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Kalsiyum klorür tamponunda hiç bir aşamada PE tespit edilememiştir. Diğer tamponlarda ise çok olmamakla birlikte APC içeriğinde küçük artışlar gösterdiği saptanmıştır. Maksimum değerler saf suda 140. dk. 0,021 mg/mL, diğerlerinde ise 180. dk. sırasıyla 0,013 mg/mL, 0,004 mg/mL ve 0,011 mg/mL olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.9). PC ve APC içeriğinde de olduğu gibi en yüksek verim saf su ve fosfat tamponu ile özütlenen örneklerde elde edilmiştir. Deniz orjinli *Pseudanabaena* sp.'den yüksek saflıkta PE özütlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada ham özütün PE içeriği bizim bulgularımızdan farklı olarak 0,058 mg/mL, saflık ise 0,93 olarak bulunmuştur (Mishra vd., 2011). Elde edilen bulgularımızla mevcut çalışma arasında görülen farklılığın sebebi olarak PE'nin özütlenme şartları, yöntem farklılıkları ve organizmanın orjin farklılığı olduğu düşünülmektedir.

PE içeriği, *Polysiphonia urceolata*, *Grateloupia turuturu*, gibi kırmızı alg türlerinden ekstrakte edilmiştir (Denis vd., 2009; Ramos vd., 2010; Yan vd., 2011; Liu vd., 2012; Ökmen ve Türkcan 2013). Liu vd. (2005) bir kırmızı alg türü olan *Polysiphonia urceolata* türünün fosfat tampon ile özütlenmesi sonucu ham özütün PE verimi 79.623 mg/g olarak bulunmuştur. Denis vd., (2009) kırmızı makro alglerden olan *Grateloupia turuturu*'nun PE içeriği üzerine yaptıkları çalışmalarında taze örneklerin fosfat tamponu ve saf su ile ekstraksiyonu sonrası PE verimi sırasıyla 1,07 mg/g, 1.00 mg/g, saflık ise 0,11, 0,12 olarak bildirilmiştir. Dondurulduktan sonra kurutulmuş örneklerin aynı tamponlarla özütleme işlemi sonrası verimi ise 2,75 mg/g, 2,79 mg/g, saflık değeri her iki tampon içinde 0,14 olarak bulunmuştur.

BG 11 ortamında geliştirilmiş ve hasat sonrası dondurulduktan sonra liyofilize edilmiş *Pseudanabaena* sp. örneklerinde yapılan yağ asit analiz sonuçlarına göre 9 yağ asidi tespit edilmiştir. Yüzde konsantrasyon bakımından en yüksek bulunan yağ asidi %40,74 ile doymuş yağ asidi palmitik asit, takiben %38,38'lik değeri ile tekli doymamış yağ asidi oleik asittir. Mavi-yeşil algin toplam yağ asit içeriğinin %57,58'ini doymamış yağ asitleri, %42,41'ini ise doymuş yağ asitleri oluşturmaktadır (Çizelge 4.13). Benzer şekilde, Yılmaz vd. (2010) tarafından *S. platensis*'in yağ asit kompozisyonu üzerine tuzluluğun etkisinin belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada yedi farklı yağ asidi tespit edilmiş, en yüksek değer %25.1 ile palmitik asit olarak belirlenmiştir. Ayrıca, farklı tuzluluk ortamlarında geliştirilen algin doymuş yağ asit içeriği %45.0-%45.3, tekli doymamış yağ asit içeriği %7.1-%7.2, çoklu doymamış yağ asit içeriği ise %32.6-%33.0 aralığında bildirilmiştir. Işık vd. (2006) tarafından yapılan benzer bir çalışmada da *S. platensis*'in yağ asit kompozisyonu üzerine çevre şartlarının etkisinin belirlendiği bir çalışmada, yaz ve kış dönemlerinde belirlenen en yüksek yağ asidi sırasıyla %36,891 ve %27,945'lik değer ile palmitik asit olarak belirlenmiştir. Ramadan vd. (2008) tarafından *S. platensis* lipidlerinin fonksiyonel bioaktif bileşenlerinin belirlenmesine yönelik bir çalışmada yedi farklı yağ asidi tespit edilmiş, en yüksek değer %44,2 ile palmitik asit, takiben %23,4 ile γ -linolenik asit olduğu bildirilmiştir. Ayrıca toplam yağ asit içeriğinin %45,3'lük kısmını doymuş, %55,72'lik kısmında doymamış yağ asitlerinin oluşturduğu saptanmıştır. Zili vd. (2015) tarafından termofilik bir mavi-yeşil alg olan *Gloeocapsa gelatinosa*'nın yağ asit içeriği belirlenmiş ve en yüksek

oranda %27,25 ile palmitik asit olarak bulunmuştur. Doymuş yağ asit içeriğinin %56,84, doymamış yağ asit içeriğinin ise %41,17 olduğu bildirilmiştir.

Sonuç olarak;

- *Pseudanabaena* sp. türün en iyi gelişim gösterdiği ortamlar ASN III ve BG 11 olmakla birlikte, JM ve TS+TE ortamlarında da tür gelişiminin olduğu saptanmıştır.
- *Pseudanabaena* sp. türünden fikobiliproteinlerin özütlenmesinde en uygun tamponun, saf su ve fosfat tamponu olduğu belirlenmiştir. Özellikle saf suda en iyi sonuçların elde edilmiş olması, üretim sırasında oluşabilecek kimyasal kontaminasyonların önüne geçeceğinden dolayı elde edilen ürünün gıda, ilaç, vb., alanlarda kullanılabilmesi için oldukça önemli bulgudur.
- Türün ticari olarak PC üretiminde yoğun olarak kullanılan, literatürdeki birçok mavi-yeşil alg türünden daha yüksek fikosiyanın (PC) verimine sahip olması nedeni ile termal *Pseudanabaena* sp. türü, fikosiyanın üretimi için alternative bir tür olarak önerilmektedir.
- Türün çok düşük ham yağ içeriğine sahip olduğu, yapılan yağ asit analiz sonuçlarına göre doymuş yağ asit içeriğinden doymamış yağ asit içeriğinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.
- Türün oldukça yüksek PC ve APC içeriğine sahip olması nedeniyle ilave çalışmalarla mikrobiyolojik ve toksikolojik güvenilirlik analizleri yapıldıktan sonra gıda, kozmetik ve ilaç sanayisinde kullanılabilme olanakları araştırılmasına yönelik çalışmalara ağırlık verilmesi gerektiği düşünülmektedir.
- Mevcut çalışmanın; gıda, kozmetik ve ilaç sanayisi gibi pek çok alanda potansiyel kullanım olanağı bulunan fikosiyanın üretimine yönelik ülkemizde çok az sayıda çalışma olması ve fikosiyanın yerel bir türden elde edilmiş olması gibi nedenlerle ileride yapılacak bilimsel ve teknolojik çalışmalar için ön bilgi oluşturacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Acinas, S.G., Haverkamp, T.H.A., Huisman, J., Stal, L.J. (2008) Phenotypic and genetic diversification of *Pseudanabaena* sp.(Cyanobacteria), *The ISME Journal*, 3:31-46.
- Adir, N. ve Lerner. N. (2003) The crystal structure of a novel unmethylated form of C-phycoyanin, a possible connector between cores and rods in phyobilisomes, *Journal of Biological Chemistry*, 278:25926-25932.
- Arad (Malis), S veYaron, A. (1992) Natural pigments from red microalgae for use in foods and cosmetics, *Trends in Food Science & Technology*, 3:4(22):92-96.
- Akoğlu, A. ve akmakı, M.L. (2011) Siyanobakterilerden elde edilen fikosiyaninin kullanım alanları, *Su rnleri Dergisi*, 28(4):137-141.
- Akoğlu, A. (2012) *Siyanobakteriden elde edilen fikosiyaninin saflaştırılması ve karakterizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 120s.
- Anonim, (2011) Merck Millipore Laboratuvar El Kitabı, (Ed: Zencir, Y.), Ekim, II.Baskı.
- Bat, L., Sezgin, M., Aydın, A., řahin, F., Koç, Y., Sönmez, E. ve Akbulut, B. (2014) Sinop Üniversitesi Su rnleri Temel Bilimler Szlg, Sinop, 178s.
- Benedetti, S., Rinalducci, S., Benvenuti, F., Francogli, S., Pagliarani, S., Giorgi, L., Micheloni, M., D'Amici, G.M., Zolla, L. ve Canestrari, F. (2006) Purification and characterization of phycoyanin from the blue-green alga aphanizomenon flos-aquae, *Journal of Chromatographic B*, 833:12-18.
- Bennett, A. ve Bogarad, L. (1973) Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga, *The Journal of Cell Biology*, 58:419-435.
- Bergey, D.H. ve Holt, J.G. (1994) Bergey's manual of determinative bacteriology, *Lippincott Williams & Wilkins*, 397s.
- Bermejo, R., Felipe, M.A., Talavera, E.M. ve Alvarez-Pez, J.M. (2006) Expanded bed adsorption chromatography for recovery of phycoyanins from the microalga *Spirulina platensis*, *Chromatographia*, 63:59-66.
- Brownlee, E. F., Sellner, S.G. ve Sellner. K.G. (2003) Effects of barley straw (*Hordeum vulgare*) on freshwater and brackish phytoplankton and cyanobacteria, *Journal of Applied Phycology*, 15(6):525-531.

- Bryant, D. (1982) Phycoerythrocyanin and phycoerythrin: Properties and occurrence in cyanobacteria, *Journal of General Microbiology* 128:835-844.
- Canto De Loura, I., Dubacq, J.P. ve Thomas, J.C. (1987) The effects of nitrogen deficiency on pigments and lipids of Cyanobacteria, *Plant Physiol*, 83:838-843.
- Castenholz, R.W. ve Phylum, B.X. (2001) Cyanobacteria, oxygenic photosynthetic bacteria-In: Boone D.R. Castenholz R.W. (eds.), *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology*, 1/ Springer-Verlag, 721s.
- Çelikel, N., Kınık, Ö., Gönç, S. ve Kavas, G.(2006) Mikroalglerin gıdalarda renk verici madde (pigment) kaynağı olarak kullanımı, Türkiye 9.Gıda Kongresi, 2006, Bolu, 447-450.
- Chen, F. ve Zhang, Y. (1997) High cell density mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose for phycocyanin production using a fed-batch system, *Enzyme Microbiology .Technoloji*, 20:221-224.
- Cirik, Ş ve Cirik, S. (2004) *Su bitkileri, deniz bitkilerinin biyolojisi, ekolojisi, yetiştirme teknikleri*, 34-38s, Ege Ü. Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, 2004, İzmir.
- Cirik, S. ve Gökpınar, Ş. (2006) *Pseudanabaena (Oscillatoriaceae)*, 63s., *Plankton Bilgisi ve Kültürü*, 4.Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
- Cirik, S., Ak, İ. ve Cirik, Y. (2008) Allianoi (Bergama, Türkiye) termal sularının mikroalgleri, *III.Ulusal Limnoloji Sempozyumu*, 2008, İzmir, 85.
- Contreras Martel, C., Matamala, A., Bruna, C., Poo Caamano, G., Almonacid, D., Figueroa, M., Martinez Oyanedel, J. ve Bunster, M. (2007) The structure at 2 a resolution of phycocyanin from *Gracilaria chilensis* and the energy transfer network in a PC-PC complex, *Biophysical Chemistry*, 125: 388-396 cyanobacteria *Pseudanabaena* sp., *International Journal of Biological Macromolecules*, 7(5):597-602.
- Dalay, M.C., İmamoğlu, E. ve Öncel, S. (2008) Mikroalgal biyokütle üretimi için düşük maliyetli fotobiyoreaktör tasarımı projesi, 117s.
- Demirel, Z., Hatipoğlu, S.U., Nalbantsoy, A., Yılmaz, F. F., Erbaykent, B., T. Deliloğlu, İ. G. ve Dalay, M. C. (2012) A comparative study on antioxidant and cytotoxic effects of *Oscillatoria amphibia* and *Spirulina platensis* C-phycocyanin and crude extracts, *Ege J Fish Aqua Sci.*, 29(1):1-7.
- Denis, C., Ledorze, C., Jaouen, P. ve Fleurence, J. (2009) Comparison of different procedures for the extraction and partial purification of R-phycoerythrin from the red macroalga *Grateloupia turuturu*, *Botanica Marina*, 52:278-281.

- Duangsee, R., Phoopat, N. ve Ningsanond, S. (2009) Phycocyanin extractio from *Spirulina platensis* and extract stability under various pH and temperature, *As. J. Food Ag-Ind.*, 2(04):819-826.
- Dumlupınar, Y.M. (2012) *İzmir ilinde gelişen bazı mavi-yeşil alglerin (Cyanophyta: Cyanobacteria) izolasyonu ve kültürü*, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 65 s.
- Duru, M.D. ve Yılmaz, H.K. (2013) Mikro alglerin pigment kaynağı olarak balık yemlerinde kullanımı, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6(2):112-118.
- Erdal, P. ve Ökmen, G. (2013) Gıdalarda kullanılan mikrobiyal kaynaklı pigmentler, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6 (2):56-68.
- Eriksen, N.T. (2008) Production of phycocyanin a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80:1-14.
- Fujita, Y. Ve Shimura, S. (1974) Phycoerythrin and photosynthesis of the pelagic blue-green alga *Trichodesmium thiebautii* in the waters of Kuroshio, *Mar.Biol.*, 31:121-128.
- Gantar, M., Simovic, D., Djilas,S.,Gonzalez, W.W. ve Miksovska, J. (2012). Isolation, characterization and antioxidative activity of C- phycocyanin from *Limnithrix* sp., *J Biotechnol*, 159(1-2):21-26.
- Henrikson, R. (2011) Development of a *Spirulina* industry-marketing. <http://www.algaeindustrymagazine.com/special-report-spirulina-part-6/>, Erişim tarihi: 20.01.2016.
- Herrera, A., Boussiba, S., Napoleone, V. ve Hohlberg, A. (1989) Recovery of C-phycocyanin from the Cyanobacterium *Spirulina maxima*, *Journal of Applied Phycology*, 1:325-331.
- Hitzfeld, B.C., Hoeger SJ. ve Dietrich, DR. (2000) Cyanobacterial toxins: removal during drinking water treatment, and human risk assesment, *Environ Health Perspect*, 108:113-122.
- <http://www.atcc.org/~media/D3547D63F887423DAFB39841A5B588B9.ashx>
- <http://www.ccap.ac.uk/media/documents/JM.pdf>
- Işık, O., Hızarcı, L., Sayın, S., Gökpinar, Ş., Durmaz, Y. ve Göksan, T. (2006) The effect of the environmental factors on the vitamin C (Ascorbic Acid), E (Alpha tocopherol), β -carotene contents and the fatty acid composition of *Spirulina platensis*, *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 23(3-4):257-261.
- Kahraman, S.D. ve Küplülü, Ö. (2012) Siyanobakteriler ve toksinleri, *Veteriner Hekimler Dergisi*, 83(2):36-47.

- Kirkwood, A.E., Nalewajko, C. ve Fulthorpe, R.R. (2003) Physiological characteristics of cyanobacteria in a pulp and paper waste-treatment systems, *Journal of Applied Phycology*, 15:325-335.
- Kling, H.J. ve Watson, S. (2003) A new planktic species of *Pseudanabaena* (Cyanoprokaryota, Oscillatoriales) from North American large lakes, *Hydrobiologia*, 502:383-388.
- Koru, E. ve Cirik, S. (2003) *Spirulina platensis* (Cyanophyceae) mikroalginin büyümesine ve bazı biyokimyasal özelliklerine sıcaklığın etkisi, *Ege Ün. Su Ürünleri Dergisi*, 20: 419-422.
- Liu, Y., Xu, L., Cheng, N., Lin, L. ve Zhang, C. (2000) Inhibitory effect of phycocyanin from *Spirulina platensis* on the growth of human leukemia K562 cells, *Journal of Applied Phycology*, 12:125-130
- Liu, L.N., Chen, X.L., Zhang, Y.Z., Zhang, Y.Z. ve Zhou, B.C. (2005) One-step chromatography method for efficient separation and purification of R-phycoerythrin from *Polysiphoniaurceolat*, *Journal of Biotechnology*, 116:91-100.
- Liu, Y., Feng, Y. ve Lun, J. (2012) Aqueous two-phase countercurrent distribution for the separation of C-phycoerythrin and allophycoerythrin from *Spirulina platensis*, *Food and Bioprocess Technology*, 90:111-117.
- Maccoll, R. (1998) Cyanobacterial phycobilisomes, *Journal Of Structural Biology*. 124:311-334.
- Mishra, S. (2007) Phycobiliproteins from microalgae-recent advances on applied aspects of indian marine algae with reference to Global scenario, *Csmcri Publicatons*, 2:273-284.
- Mishra, S.K., Shrivastav, S., Pancha, I., Jain, G. ve Mishra, S. (2010) Effect of preservatives for food grade C-phycoerythrin, isolated from marine, *International Journal of Biological Macromolecules*, 47:597-602.
- Mishra, S.K., Shrivastav, A. ve Mishra, S. (2011) Preparation of highly purified C-phycoerythrin from marine cyanobacterium *Pseudanabaena* sp., *Protein Expression and Purification*, 80:234-238.
- Mishra, S.K., Shrivastav, A., Maurya, R.R., Patidar, S.K., Haldar, S. ve Mishra, S. (2012) Effect of light quality on the C-phycoerythrin production in marine cyanobacteria *Pseudanabaena* sp. isolated from Gujarat coast, *Protein Expression and Purification*, 81(1):5-10.
- Moraes, C.C., Burkert, J.F.M. ve Kalil, S.J. (2010) C-phycoerythrin extraction process for large-scale use, *Journal of Food Biochemistry*, 34:133-148

- Moraes, C.C, Sala, L., Cerveira, G.P ve Kalil, S.J (2011) C-phycoyanin extraction from *Spirulina Platensis* wet biomass, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 28(1):45-49.
- Oğuz, H. (2008) *Çukurova iklim koşullarının Spirulina platensis (cyanophyta)'deki fikosiyanın miktarına etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara 52s.
- Oğuz, H., Işık, O., Uslu, L.H., Sayın, S. ve Yılmaz, H.K. (2011) Çukurova bölgesi (Adana-Türkiye) iklim koşullarının *Spirulina platensis* (Cyanophyta)'in C-fikosiyanın miktarına etkisi, *Journal of FisheriesSciences.com*, 5(2):146-152.
- Oliveira, E.G., Rosa, G.S., Moraes, M.A. ve Pinto, L.A.A. (2008) Phycocyanin content of *Spirulina platensis* dried in spouted bed and thin layer, *Journal of Food Process Engineering*, 31:34-50.
- Ökmen, G. ve Türkcan, O. (2013) *Anabaena* sp.'nin pigment içerikleri üzerine glukoz ve sukrozun etkisi, *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 11(1):36-43.
- Ulçay, S., Öztürk, M., Kurt, O., Taşkın, E. ve Öztürk, M. (2007) Dikili İlçesi (İzmir) kaplıcalarında yayılım gösteren termal Cyanophyceae (Mavi-Yeşil Alg) türleri, *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 5(8):371-378.
- Patel, A., Pawar, R., Mishra, S., Sonawane, S. ve Ghosh, PK. (2004) Kinetic studies on thermal denaturation of C-phycoyanin, *Indian J Biochem Biophy* 41:254-257.
- Patil, G., Chethana, S., Sridevi, A.S. ve Raghavarao, K.S.M.S (2006) Method to obtain C-phycoyanin of high purity, *Journal of ChromatographicA*, 1127:76-81.
- Patil, G., Chethana, S., Madsusudhan, M.C. ve Raghavaro, K.S.M.S. (2008) Fractionation and purification of the phycobiliproteins from *Spirulina platensis*, *Bioresource Technology*, 99:7393-7396.
- Paul, BT., Selvam, G., Murugesan, R., Patel, A., Mishra, S. ve Ghosh, PK. (2006) Photodynamic action of C-phycoyanins obtained from marine and fresh water cyanobacterial cultures: a comparative study using EPR-spin trapping technique, *Free Radical Res*, 40(8):5-821.
- Provasoli, L., Molaughlin, J.J.A. ve Droop, M.R. (1957) The development of artificial media for marine algae, *Archiv für Mikrobiologie*, 25:392-428.
- Qureshi, M. ve Ali, R.A. (1996 a) Phagocytic potential of feline macrophages after exposure to a water soluble extract of *Spirulina* in vitro, *Immunopharmacol Immunotoxicology*, 18(3):342-354.
- Qureshi, M. ve Ali, R.A. (1996 b) *Spirulina platensis* exposure enhances macrophage phagocytic function in cats, *Immunopharmacol Immunotoxicology*,

18(3):457-463.

- Ramadan, M.F., Asker, M.M.S. ve Ibrahim, Z.K. (2008) Functional bioactive compounds and biological activities of *Spirulina platensis* lipids, *Czech J. Food Science*, 26:211-222.
- Ramos, A., Acien, F.G., Fernandez-Sevilla, J.M., Gonzalez, C.V. ve Bermejo, R. (2010) Large-scale isolation and purification of C-phycoyanin from the cyanobacteria *Anabaena marina* using expanded bed adsorption chromatography, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 85:783-792.
- Romay, C., Armesto, J., Ramirez, D., Gonzalez, R., Ledon, N. ve Garcia, I. (1998) Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycoyanin from blue-green algae, *Inflammation Research*, 47:36-41.
- Sandık, E.İ., (2009) *Denizli, Sarayköy`de bulunan termal kaynaktan izole edilen siyanobakteri Pseudanabaena sp. ve Synechococcus sp.`den elde edilen ekstraktların farmakolojik aktivitesinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 79s.
- Santiago-Santos, Mac., Ponce-Noyola, T., Olvera-Ramírez, R., Ortega-Lopez, J. ve Canizares-Villanueva, R.O. (2004) Extraction and purification of Phycocyanin from *Calothrix sp.*, *Process Biochemistry*, 39:2047-2052.
- Sarada, R., Pillai, M.G. ve Ravishankar, A. (1999) Phycocyanin from *Spirulina sp.*: influence of processing of biomass an phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin, *ProcessBiochemistry*, 24:795-80.
- Seckbach, J. (2007) Algae and cyanobacteria in extreme environments, *Springer*, 5:413-424.
- Sekar, S. ve Chandramohan, M. (2008) Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization, *Journal of Applied Phycology*, 20:113-136.
- Silva, L.A.,Kuhn, K.R., Moraes, C.C., Burkert, C.A.V. ve Kalil, S.J. (2009) Experimental design as a tool for optimization of C-phycoyanin purification by precipitation from *Spirulina platensis*, *J. Braz. Chem. Soc.*, 20(1):5-12.
- Silveira,S.T., Burkert, J.F.M., Costa, J.A.V., Burkert, C.A.V. ve Kalil, S.J. (2007) Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design, *Bioresource Technology*, 98:1629-1634.
- Singh, N.K., Parmar, A. ve Madamwar, D. (2009) Optimization of medium components for increased productionof C-phycoyanin from *Phormidium*

ceylanicum and its purification by single step process, *Bioresource Technology*, 100:1663-1669.

- Sorensen, L., Hantke, A. ve Eriksen, N.T. (2013) Purification of the photosynthetic pigment C-phycoyanin from heterotrophic *Galdieri sulphuraria*, *wileyonlinelibrary.com*, DOI 10.1002:jsfa.6116.
- Steiner, R.Y., Kunisawa, R., Mandel., M., Cohen-Bazire, G., (1971) Purification and properties of unicellular blue-green algae (Order Chroococcales), *Bacteriol. Rev.*, 35:171-205.
- Tamburacı, S. (2009) *Termal sudan izole edilen Pseudanabaena sp. şusunun üretim koşullarının optimizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 154s.
- Taş, B. ve Taş, E. (2007) Mavi-yeşil alglerin (Cyanobacteria) evlusuyonu ve stromatolitler, *Biyoloji Eğitiminde Evrim Sempozyumu*, 2007, Malatya, 233-242.
- Tunail, N. (2009) *Mikrobiyoloji*, Pelin ofset, Ankara, 448s.
- Vonshak, A. (1997) Spirulina: growth, physiology and biochemistry. *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology, *Taylorand Francis publishers*, London, 233.
- Yan, S.G., Zhu, L.P., Su, H.N., Zhang, X.Y., Chen, X.L., Zhou, B.C. ve Zhong, Y.Z. (2011) Single-step chromatography for simultaneous purification of C-phycoyanin and allophycoyanin with high purity and recovery from *Spirulina (Arthrospira) platensis*, *J Appl Phycol*, 23:1-6.
- Yaron, A., Cohen, E. ve S. (Malis) Arad. (1993) Stabilization of *Aloe vera* gel by interaction with sulfated polysaccharides from red microalgae and with xanthan gum, *J. Agr. Food Chem.*, 40:1316-1320.
- Yılmaz, H.K., Ayas, D., Yılmaz, D ve, Özoğul, Y. (2010) The effects of different salinity rates on fat and fatty acid composition of *Spirulina platensis*, *Journal of FisheriesSciences.com*, 4(3):282-286.
- Yüksel, K. (2009) *İzmir ili ve çevresinde bulunan termal sularda gelişen bazı termofilik mavi-yeşil alglerin (siyanobakterilerin) izolasyonu ve moleküler yöntemlerle tayini*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 96s.
- Zili, F., Mezhoud, N., Trabelsi, L., Chreif, I. ve Ouada, H. B. (2015) Fatty acid composition of the thermophilic *Gloeocapsa gelatinosa* under different combinations of temperature, light intensity, and NaNO₃ concentration. *J Appl Phycol*, 27:97-107.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : Mürşit Kovancı
Uyruk : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Milas 26.10.1988
Medeni Hali :Bekâr
E-posta : mursit_88@hotmail.com

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Milas Lisesi	2006
Lisans	Süleyman Demirel Üniversitesi	2012
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2016

Yabancı Dil

İngilizce	Başlangıç	Orta	İleri
Yazma	X		
Konuşma	X		
Anlama		X	
Okuma		X	