

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hande OGUZ

**ÇUKUROVA İKLİM KOŞULLARININ *SPIRULİNA PLATENSİS*
(CYANOPHYTA)’DEKİ FİKOSİYANİN MİKTARINA ETKİSİ**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2008

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇUKUROVA İKLİM KOŞULLARININ *SPİRULİNA PLATENSİS*
(CYANOPHYTA)'DEKİ FİKOSİYANİN MİKTARINA ETKİSİ**

Hande OGUZ

YÜKSEK LİSANS

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez .../.../ 2008 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.

İmza

İmza

İmza

Prof.Dr. Oya IŞIK
DANIŞMAN

Doç.Dr.Sevim POLAT
ÜYE

DoçDr.Yeşim MENDİ
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: FBE.2002.YL.212

• **Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ
YÜKSEK LİSANS

**ÇUKUROVA İKLİM KOŞULLARININ *SPIRULINA PLATENSIS*
(CYANOPHYTA)'DEKİ FİKOSİYANİN MİKTARINA ETKİSİ**

Hande OGUZ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof.Dr. Oya IŞIK

Yıl 2008, Sayfa: 43

Jüri : Prof.Dr. Oya IŞIK

Doç.Dr. Sevim POLAT

Doç Dr. Yeşim YALÇIN MENDİ

Çukurova bölgesinde, *Spirulina platensis* kültürlerinde mevsime bağlı sıcaklık ve aydınlanma şiddetinin, mavi renkli pigment C-fikosiyanin içeriğine etkisini ve protein miktarını belirlemek üzere, dışarı koşullarında, sera içerisinde fiber-glass havuzlarda nisan, temmuz ve eylül aylarında yapılan denemelerde, C-fikosiyanin miktarları sırasıyla 329.91 ± 0.029 , 326.75 ± 0.016 ve 332.71 ± 0.021 $\mu\text{g/ml}$ bulunmuştur. Yaz ayı su sıcaklık ortalaması 34.52 ± 0.60 °C ile sonbahar ve ilkbaharda saptanan su sıcaklıklarından (30.03 ± 0.43 °C ve 24.87 ± 0.74 °C) daha yüksek olmuştur. Mevsimlere göre aydınlanma şiddeti düzeylerine bakıldığında, temmuz ayındaki aydınlanma şiddetinin (1195.08 ± 92.04 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), eylül ve nisan aylarındaki denemelerde belirlenen aydınlık şiddeti değerlerinden (822.46 ± 57.48 ve 684.40 ± 103.89 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) yüksek olduğu görülmektedir. Saptanan protein oranları ilkbahar,yaz ve sonbahar, koşullarında sırasıyla, %68 ,%68 ve %72 olmuştur. Nisan, temmuz ve eylül aylarında, *Spirulina platensis* kültürlerinde fikosiyanin ve protein içeriklerinde farklılık olmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Spirulina platensis*, dışarı kültür, sıcaklık, ılık, C-fikosiyanin

ABSTRACT
MSc THESIS

**THE EFFECTS OF THE CLIMATE CONDITIONS IN CUKUROVA ON THE
PHYCOCYANIN PIGMENTS Of *Spirulina platensis* (CYANOPHYTA)**

Hande OGUZ

DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY

INSTITUTE OF NATURAL APPLIED SCIENCE

UNIVERSITY OF CUKUROVA

Supervisor : Prof.Dr. Oya IŞIK

Year 2008, Page: 43

Jury : Prof.Dr. Oya IŞIK

Assoc.Prof. Sevim POLAT

Assoc.Prof. Yeşim YALÇIN MENDİ

In Cukurova region, the experiments were carried out in the fiber-glass ponds in the greenhouse during the months of april, july and september in order to determine the effect of seasonal temperature and light intensity on the blue pigment C-phyococyanin and protein content of *Spirulina platensis*. C-phyococyanin contents were found to be 329.91 ± 0.029 , 326.75 ± 0.016 ve 332.71 ± 0.021 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The water temperature of July, 34.52 ± 0.60 °C, was found to be higher than the temperatures of autumn (30.03 ± 0.43) and spring (24.87 ± 0.74 °C). The light intensity of July (1195.08 ± 92.04 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) was also found to be higher than the light intensity of September and April (822.46 ± 57.48 and 684.40 ± 103.89 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). The protein ratios were found as 68% and 68%,72% for spring summer and autumn, respectively. In the study, it was concluded that there is no differences amongs the months of April July and September about the rate, phyococyanin and protein contents of the *Spirulina platensis* cultures.

Keywords: *Spirulina platensis*, outdoor culture, temperature, light, C-phyococyanin

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimime başladığım ilk günden itibaren, ilgi ve desteğini asla esirgemeyen, büyük bir sabır ve titizlikle bilgi ve tecrübelerini aktararak gelişmemi sağlayan, inandığım ve güvendiğim değerli danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Oya IŞIK'a, tez çalışmam esnasında ilgisini ve yardımlarını gördüğüm, laboratuvar deneyim ve birikimlerinden yaralandığım değerli Araştırma Görevlisi Leyla USLU'ya ve Yrd.Doc.Dr.Selin SAYIN'a, tez çalışmam süresince tüm varlıklarıyla her zaman yanımda olan değerli iş ortaklarım ve meslektaşlarım Yüksek lisans öğrencileri Yasemin BULUT ve Müzeyyen KÖKSAL'a, laboratuvar olanaklarından yararlandığım İşleme bölümü ve bu bölümün değerli öğretim üyelerinden Doc.Dr.Yeşim ÖZOĞUL, Doc.Dr.Fatih ÖZOĞUL ve Arş.Gör.Esmeray BOĞA'ya, tez yazımım sırasında parlak fikirleri ve desteğini gördüğüm Bitki Koruma Bölümü öğretim üyesi Sayın Yrd.Doc.Dr.Gökhan AYDIN'a, denemelerimin yürütülmesi ve analizler sırasında yardımlarını gördüğüm Su Ürünleri Mühendisleri Hilal KABAK, Selver BOZDOĞAN ve Emine GENÇ'e, Yüksek Lisans öğrencisi Levent Itri ERKOL'a, meslektaşım Yüksek Su Ürünleri Mühendisi Tuba TERBIYIK'a, engin düşüncelerini paylaşan ve manevi desteğini ilgisini gördüğüm değerli meslektaşım Yüksek Mühendis Barış SEZER'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, tez çalışmam esnasında varlığımı bütünleyen, bana inanıp sürekli cesaret veren, asla beni yalnız bırakmayan değerli hazinem annem, babam ve ağabeyime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	6
3. MATERYAL VE METOD	9
Materyal.....	9
<i>Spirulina platensis</i>	9
Denemede Kullanılan Havuzlar	10
Kültür Ortamı	11
<i>Spirulina platensis</i> Stok Kültürleri	12
Hasat Düzenegi.....	13
Metod	14
3.2.1. Denemenin Kurulması.....	14
3.2.2. Deneme Süresince Günlük Yapılan Analizler.....	15
3.2.2.1. Kuru Madde Analizi.....	15
3.2.2.2. Klorofil- <i>a</i> Analizi.....	15
3.2.2.3. Fikosiyanin Analizi.....	16
3.2.2.4. Hasat.....	18
3.2.2.5. Protein Analizi.....	18
4. BULGULAR.....	20
4.1. İlkbahar Dönemi (Nisan).....	20
4.2. Yaz Dönemi (Temmuz).....	24
4.3. Sonbahar Dönemi (Eylül).....	28
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	38

KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Denemede Kullanılan <i>Spirulina</i> Ortamı.....	12
Çizelge 4.1. İlkbahar Dönemi Aydınlık Şiddeti Değerleri.....	22
Çizelge 4.2. Yaz Dönemi Aydınlık Şiddeti Değerleri.....	26
Çizelge 4.3. Sonbahar Dönemi Aydınlık Şiddeti Değerleri.....	30
Çizelge 4.4. C-fikosiyanin, Protein, Sıcaklık, Klorofil- <i>a</i> , Aydınlık Şiddeti, Oksijen, Optik Yoğunluk, pH ve Kuru Madde Değerlerinin İlkbahar, Yaz ve Sonbahar Mevsimlerine Göre Durumu.....	33

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1. Denemede kullanılan <i>Spirulina platensis</i>	10
Şekil 3.2. Denemede Kullanılan Havuzlar	11
Şekil 3.3. Karışımı Sağlayan Pedal Sistemi.....	11
Şekil 3.4. Denemede Kullanılan <i>S.platensis</i> Stok Kültürleri.....	13
Şekil 3.5. Hasat Düzeneği.....	14
Şekil 3.6. Denemeden Elde Edilen C-fikosiyanin.....	17
Şekil 3.7. Protein Analizinde Kullanılan Khielidal Cihazı.....	19
Şekil 4.1. İlkbahar Dönemi Sıcaklık ve C-fikosiyanin Değerleri.....	20
Şekil 4.2. İlkbahar Dönemi Klorofil- <i>a</i> ve C-fikosiyanin Değerleri.....	21
Şekil 4.3. İlkbahar Dönemi Aydınlik Şiddeti ve C-fikosiyanin Değerleri.....	22
Şekil 4.4. İlkbahar Dönemi Oksijen ve C-fikosiyanin Değerleri.....	23
Şekil 4.5. İlkbahar Dönemi Optik Yoğunluk ve C-fikosiyanin Değerleri.....	24
Şekil 4.6. Yaz Dönemi Sıcaklık ve C-fikosiyanin Değerleri.....	25
Şekil 4.7. Yaz Dönemi Klorofil- <i>a</i> ve C-fikosiyanin Değerleri.....	25
Şekil 4.8. Yaz Dönemi Aydınlik Şiddeti ve C-fikosiyanin Değerleri.....	27
Şekil 4.9. Yaz Dönemi Oksijen ve C-fikosiyanin Değerleri.....	27
Şekil 4.10. Yaz Dönemi. Optik Yoğunluk ve C-fikosiyanin Değerleri.....	28
Şekil 4.11. Sonbahar Dönemi Sıcaklık ve C-fikosiyanin Değerleri.....	29
Şekil 4.12. Sonbahar Dönemi Klorofil- <i>a</i> ve C-fikosiyanin Değerleri.....	29
Şekil 4.13. Sonbahar Dönemi Aydınlik Şiddeti ve C-fikosiyanin Değerleri.....	31
Şekil 4.14. Sonbahar Dönemi Oksijen ve C-fikosiyanin Değerleri.....	31
Şekil 4.15. Sonbahar Dönemi Optik Yoğunluk ve C-fikosiyanin Değerleri.....	32

1.GİRİŞ

Sucul organizmaların ülkemizde besin olarak tüketilmesi bilinci giderek artmaktadır. Balık, karides gibi tüketilmekte olan besinlere yeni bir besin kaynağı olan alg ilave edilmiştir. Yetiştiriciliği yapılan mikroalg türlerinden biri de 1990'lı yılların süper besini olarak bilinen ve doğada 3,6 milyar yıldan bu yana yaşamını sürdüren prokaryotik alglerden *Spirulina*'dır. Mavi-yeşil alg *Spirulina*, mikroskobik hücrelerden oluşan iplikli (filamentli) bir mikroalgdir. Bugün ticari olarak ABD, Tayvan, Tayland, Kaliforniya, Meksika, İsrail ve Çin'de *Spirulina* üretimi değişik amaçlarla, büyük hacimlerde yapılmaktadır. Termofilik ve alkalofilik özelliğe sahip *Spirulina platensis* için optimum büyüme sıcaklığı 35-37 °C dir. Yüksek pH (9-10) düzeylerini tercih eden *Spirulina* bu özellikleri sebebiyle mono kültürü yapılabilen bir alg türüdür. Üretimindeki genel amaç, insanlara protein kaynağı sağlamak ve bunun yanında, biyokimyasal yapısındaki zenginliklerden yararlanmaktır (Richmond, 2004).

Tomaselli'nin bildirdiğine göre *S. platensis* Geitler, yüksek karbonat ve bikarbonat düzeyleri ve yüksek pH isteği ile karakterize edilen, tropik ve subtropik sularda yoğun populasyon oluşturan planktonik bir siyanobakteridir. *S. platensis* esas olarak Afrika'da aynı zamanda Asya ve Güney Amerika'da yaygın olarak görülmektedir. *Spirulina*'nın aslında *Arthrospira* cinsi olduğu kabul edilse de *Arthrospira platensis* (Nordst.) Gomont 1892'in, *Spirulina platensis* Geitler 1925'in sinonimi olduğunu kabul eden taksonomistler bulunmaktadır. *Spirulina* olarak bilinen *Arthrospira* cinsi, Fransa ve Belçika'nın Afrika'yı keşfi sırasında ekibin bir üyesi olan botanist Jean Leonard tarafında 1960 ların ortalarında yeniden tanımlanmıştır. Çad ve Nijer alkali gölleri çevresinde yaşayan yerli halk Kanembu kabilesinin tükettiği ve yerel adı "dihe" olan kek benzeri gıdanın mavi-yeşil alg *Spirulina* olduğunu belirlemişlerdir.

Fotosentez, fotosentetik bakteriler ve yüksek bitkiler gibi bütün fotoototrofik organizmalar tarafından gerçekleştirilen, ışık enerjisinin kimyasal enerjiye dönüştüğü metabolik bir işlemdir. Fotosentez olayı iki evreyi içerir. Işık reaksiyonları, ışık enerjisinin yakalanmasını ve ATP'ye dönüşümünü gerektirir. Bu işlem, ışık aracılığı ile H₂O'dan NADP'ye elektron taşınımı ile gerçekleşir. Elektron taşınımında

reaksiyonların olduğu yer hücre içindeki tilakoid zarlardır. Yüksek bitkilerden farklı olarak, bu zarlar siyanobakterilerde organize bölgeler değildir. Bu reaksiyonlar yüksek bitkilerde kloroplast içinde gerçekleşirken siyanobakterilerde sitoplazma içinde oluşmaktadır. Tilakoidler klorofil *a* içerirlerken klorofil b ve c bulunmaz. Cyanophyta filumunda rezerv polisakkarit, glikojene benzer siyanofise nişastasıdır (Vonshak, 1997).

Fotosentez için gerekli olan protein ve üst düzey moleküler bileşikler detaylı çalışmaların konusuna girmektedir. *Spirulina*'nın içerdiği C-fikosiyenin ve allofikosiyenin, fikobilizomlarda bulunan ışığı hasat eden esas pigmentlerdir (Bousibba ve Richmond, 1979).

Işık, fotosistem I ve fotosistem II de bulunan pigmentler tarafından absorbe edilir. Rakhimberdieva ve ark.'nın bildirdiğine göre *S. platensis*'te fikobilizomların PSI ve PSII arasındaki dağılımı, %60 enerji transferi PS I trimerlerine ve kalan %20 nin PS I monomerleri ile gerçekleşirken fikobilizomların yaklaşık % 20'sinin PSII ye bağlı olduğunu gösterilmiştir (Richmond, 2004).

Bütün fotosentetik organizmalar ışık enerjisini kullanabilmek için organik pigmentler içerirler. Üç ana pigment sınıfı bulunmaktadır; klorofiller, karotenoidler ve fikobilinler. Klorofiller (yeşil pigmentler) ve karotenoidler (sarı ve turuncu pigmentler) lipofilik olup alkol, dietil eter, benzen ve aseton içinde çözünürken fikobilinler hidrofiliktirler ve suda çözünürler (Richmond., 2004).

Fikobilizomlar, ışığın tutulmasını sağlayan ve genellikle fotosistem II'ye enerji taşınmasında görevli protein kompleksleridirler. Fikobilizomların yapısındaki kromoproteinler (biliproteinler) tarafından soğurulan enerji fotosistem II'nin reaksiyon merkezine ulaştığı zaman, burada hareket halindeki enerjinin kimyasal enerjiye dönüşümü gerçekleşir (Richmond., 2004).

Siyanobakterilerde ve kırmızı alglerde görev yapan ana alıcı fikobilinler, fikoeritrobin, fikosiyanobilin ve fikoürobin'den oluşmaktadır. Bu aksesuar pigmentler, mavi-yeşil, sarı veya turuncu ışığı absorblarlar (500-650 nm). Fikobiliproteinler apoproteine kovalent bağ ile bağlıdırlar (Vonshak ve ark., 2004).

Spirulina'nın pigment kompozisyonu genel olarak siyanobakterilerde (cyanobacteria) olduğu gibidir. Bulunan tek klorofil, klorofil *a*'dır ve miktarı kuru

ağırlıkta % 0.8-1.5 arasında değişir. Soğukta kurutulmuş (freze-dried) *Spirulina*'da ksantofil içeriği oldukça önemli düzeydedir (6.9 g kg⁻¹). Diğer başlıca karotenoidleri, miksoksantofil (% 37), beta karoten (% 28), zeaksanthin (% 17) dir (Paoletti ve ark., 1980). Pigment kompozisyonu nedeniyle *Spirulina*, süs balıklarının pigmentasyonu için, özellikle altın balıklar için yem katkısı olarak kullanılır (Miki ve ark., 1986). Yumurta sarısını kuvvetlendirmek amacıyla kanatlı diyetlerine katılmaktadır (Anderson ve ark., 1991). *Spirulina*'nın proteinleri içinde en yüksek ekonomik değere sahip olanları biliproteinlerdir. *Spirulina* C-fikosiyanin ve allofikosiyanin olmak üzere iki tip biliprotein içermektedir. Bu mikroalgin protein fraksiyonunun yaklaşık %20 si, suda çözünen mavi bir pigment olan fikosiyaninden oluşmaktadır. Fikosiyaninin maksimum absorpsiyonu 620 nm dir (Ciferri, 1983, Cohen, 1997).

Bousibba ve Richmond (1980) fikosiyaninin *Spirulina*'da depo besin maddesi olarak görev yaptığını belirtmişlerdir. Fikosiyanin ticari olarak üretilmektedir. Japonya'da doğal renk maddesi olarak yemlerde ve kozmetik alanında kullanılmakta ve 600 kg/ay oranında üretilmektedir. Fikosiyanin'in esas kullanım alanı gıda boyası olarak kullanımıdır. Bağışıklık ile ilgili denemelerde biyokimyasal izotop olarak kullanılmaktadır. Bu pigmentin sahip olduğu flüoresan özellikten dolayı mikroskopi ve sitometri çalışmalarında yararlanılmaktadır. Suda çözüldüğünde zayıf kırmızımsı flüoresan ile parlak bir renk verir. Rengi parlak mavi ile çivit mavisi arasında bir renktir. Işığa dayanıklılığı zayıftır. Şeker, dondurma, günlük ürünler ve içeceklerin renklendirilmesinde kullanılmaktadır. Fikosiyaninin genel anlamda bağışıklık sistemini desteklediği ve çeşitli hastalıklara karşı koruma sağladığı belirtilmiştir.

Dainippon şirketi araştırmacıları, ABD ve Japonya'da, fikosiyaninin bir anti tümör ajan olarak ve ülser ile hemoroidal kanamanın iyileştirilmesi yönünde kullanımıyla ilgili iki patent almışlardır (Dainippon Inc. & Chemicals and Tokyo Kenkyukai, 1980).

Fikosiyanin dünyada çeşitli firmalar tarafından ticari olarak üretilmektedir. Başlıca, sakızlar, süt ürünleri, jöle vb. gıdalarda renklendirici olarak kullanılmaktadır. Japonya, Tayland ve Çin'de kozmetik ürünlerinde kullanılmaktadır. Mavi renkli bu pigment kozmetikte far, göz kalemi ve rujlarda da kullanılmaktadır.

Fikosiyenin, gıda, ilaç ve kozmetik sanayilerinde, doğal bir pigment olarak, karsinogen olduğundan şüphe edilen sentetik pigmentlerin yerini alabileceği bildirilmiştir (Cohen 1997; Sarada ve ark., 1998).

Fikosiyenin kokusuz ve toksik olmayan bir toz olup ticari adı 'Lina mavisı' dir. Bu pigment ışığa olan hassasiyeti ile bilinmektedir. Bu sebeple pigmentin rengini kaybetmemesi için ürünün ışıktan korunması önemlidir. Güneşte kurutulmuş ürünün pigment içeriği düşük olmaktadır (Vonshak, 1997).

Günümüzde antioksidanlar insan besinlerine serbest radikallerin hücrelere verdiği zararları engellemek amacıyla eklenmektedir. Besin desteği olarak antioksidanların kullanımında bir artış görülmektedir. Farklı faktörlerin fikosiyenin antioksidan aktivitesi üzerine etkileri çalışılmıştır. Hidroksil radikallerinin yok olmasında fikosiyenin büyük bir kısmını oluşturan fikobilinin görev aldığı belirlenmiştir (Zhou ve ark., 2005). Yürütülen çalışmalar, *Spirulina* ekstraktının serbest radikalleri (hidroksil ve peroksil) yok ettiğini ve mikrosomal lipid oksidasyonunu indirgediğini göstermiştir. Bu antioksidan aktivitesinin bir biliprotein olan fikosiyaninden kaynaklandığı belirlenmiştir. Fikobiliprotein fikosiyenin antioksidan aktivitesi için önemli olduğu bildirilmiştir (Estrada ve ark., 2001).

Spirulina'nın işlenmesi sırasında uygun olmayan kurutma yöntemleri, fikosiyenin yaklaşık %50'sinin kaybolmasına neden olmaktadır. Ekstraksiyon metodlarından dondurma, hücrelerin havanla ezilerek parçalanması, homojenize edilmesi (10000 rpm) ile her 100 mg kuru *Spirulina*'dan $19,4 \pm 0,4$ mg fikosiyenin elde edilmesini sağlamıştır. Su ile ekstraksiyon çok yavaş bir yöntemdir. Asitle yapılan denemelerde ise fikosiyenin bozulduğu gözlenmiştir. Fikosiyenin, 9 ± 1 °C de ve 5-7,5 pH aralığında bozulmadan kalmaktadır. 40 °C nin üzerindeki sıcaklıklarda ise fikosiyenin bozulduğu belirlenmiştir (Sarada ve ark., 1998).

Bölgemiz iklim koşulları *Spirulina* kültürü için son derece uygundur. Yılın büyük bir bölümü ılıman ve güneşli geçen Çukurova Bölgesinde, gece-gündüz sıcaklık farkının fazla olmaması ve havanın nem oranının yüksek olması avantaj oluşturmaktadır.

Dünyanın pek çok ülkesinde özellikle Amerika ve Japonya başta olmak üzere *Spirulina* gıda desteği olarak, toz, kapsül ya da tablet halinde tüketilmektedir.

Ülkemizde son yıllarda tüketilmeye başlanmıştır. Dünyada yıllık üretiminin 2000 ton'un üzerinde olduğu bilinen *Spirulina* ayrıca sütü gıdalar, şekerlemeler ve bazı yemeklere eklenerek tüketilmektedir. Bölgemizde üretilmeye başlanmış olan *Spirulina*, gıda desteği olarak tüketiminin yanında elde edilecek mavi renkli C-fikosiyanın doğal gıda boyası ve kozmetik alanında renklendirici olarak kullanılmasıyla da değerlendirilebilecektir. Ayrıca antioksidan madde olarak tüketime sunulabilecektir. Bu çalışma, mevsime bağlı sıcaklık ışık şiddeti gibi iklim değişiklerinin *Spirulina platensis*'deki C-fikosiyanın miktarına etkisini belirlemek amacıyla planlanmış ve İlkbahar, Yaz ve Sonbahar mevsimlerinde yürütülmüştür.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Yapılan bir başka çalışmada, *Oscillatoria agardhii* ışık yoğunluğu ve sıcaklığın çeşitli kombinasyonlarında 16 saat aydınlık 8 saat karanlık döngüde turbidostat sistemde kültüre alınmıştır. Işık sınırlamasının pigmentler, klorofil-*a* ve C-fikosiyanin miktarını arttırdığı saptanmıştır (Post ve ark.,1985).

Tomaselli ve ark. (1988) yürüttükleri çalışmada *S.platensis* M2'nin, yüksek sıcaklıklarda ve sınırlı ışık koşullarında sürekli üretimini yaparak iplik yapısı, büyüme oranı, makromoleküler bileşimi, lipid ve yağ asidi kompozisyonu ve fikobiliprotein: klorofil-*a* oranının nasıl etkilendiğini araştırmışlardır. Aynı çalışmada *Spirulina platensis* M2 suşunun farklı sıcaklıklardaki besin içeriğini incelemişler, 30°C'de %58.6, 35°C'de %58, 38°C'de %57.7, 40°C'de %55.5 ve 42°C'de ise %45.5 protein/kuru ağırlık bulmuşlardır. 42 °C sıcaklıktaki üretimlerde 35 °C'dekilere oranla protein oranında %22 düşüş olduğunu belirtmişlerdir.

Torzillo (1991) yürüttüğü bir çalışmada *Spirulina maxima*'nın sürekli kültür sistemlerinde büyüme hızının kesikli kültürlerle oranla daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Ayrıca yüksek ışıkla aydınlatılan kültürlerde, karbonhidrat oranının, düşük ışıkla aydınlatılan kültürlerde ise protein oranının yüksek olduğunu bildirmiştir.

Chen ve Zhang (1997), 3.7 L'lik bir fermentör içinde 2.5 L Zarrouk ortamı kullanarak 30 °C sabit sıcaklıkta *S.platensis*'in mikсотrofik ve fototrofik gelişimini ve fikosiyanin üretimini incelemişlerdir. Deneme boyunca pH 9.5-10.5 arasında değişmiş, üretimler, 80 µE m⁻²s⁻¹ ışık yoğunluğu ile sürekli aydınlatılmıştır. Dokuz gün süren fototrofik yığın üretim denemesinde en yüksek ürün yoğunluğu 2 gL⁻¹ olarak elde edilmiştir. Deneme sonunda fototrofik kesikli kültürde fikosiyanin miktarının 135 mg g⁻¹, mikсотrofik kesikli kültürde ise fikosiyanin miktarının 54 mg g⁻¹'dan 125 mg g⁻¹'a yükseldiğini belirlemişlerdir.

Yapılan bir çalışmada *Spirulina* hücrelerinin makromoleküler yapısıyla sıcaklık arasında da ilişki var olduğu, sıcaklık artışı ile birlikte özellikle 40°C ve üzerindeki sıcaklık değerlerinde, protein değerinin azaldığı, buna karşılık yağ ve karbonhidrat değerlerinin arttığı saptanmıştır (Cohen, 1997; Kuru ve Ciriş, 2002).

Koru ve Cirik (2003) yürüttükleri bir çalışmada laboratuvar koşullarında *S. platensis*'in 2000 lux. ışık şiddetinde ve 28 °C'den 45 °C'ye kadar olan sıcaklıklarda büyümesi ve metabolizmaya etkisini araştırmışlardır. Sıcaklık artışının filamentlerin morfolojisi, büyümesi, makromoleküler yapısı, yağ ve yağ asitleri içeriklerindeki etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Su sıcaklığı 43 °C olduğunda, protein içeriğinde %20 gibi önemli bir azalma belirlenmiştir. *S. platensis*'in yoğun üretiminde 35 °C'nin biyokimyasal yapı ve büyüme için en uygun olduğunu saptamışlardır.

Abd El Baky (2003) yürüttükleri bir çalışmada *Spirulina platensis* ve *Spirulina maxima*'yı farklı azot ve tuz düzeyleri içeren besin ortamında kültüre almışlardır. *Spirulina*'daki fikosiyanin pigmentlerinin kompozisyonu, tuz stresi ve azot içeriklerindeki değişimlere göre R-fikosiyanin 5.75'den %12.35'e, allofikosiyanin 2.53'den %6.11'e ve C-fikosiyanin 1.65'den %4.02'e yükselmiştir. *Spirulina maxima* ve *Spirulina platensis*' de protein ve fikosiyanin içeriklerinin önemli derecede besi ortamındaki NaCl düzeylerinden etkilendiği ve her iki alg türünde de NaCl ve azot azlığı stresi altında fikosiyaninin en yüksek miktarının üretildiği bildirilmiştir.

Spirulina platensis ve *Spirulina fusiformis*'in biyokimyasal değişimleri ve büyümesine sıcaklık, ışık ve pH gibi ayırt edici çevresel faktörlerin katkısı araştırılmıştır. Deney için distile su ile Zarouk ortamı kullanılarak *Spirulina platensis* için sıcaklık 32 °C, ışık 2500 lüks ve pH 9'a ayarlanırken *Spirulina fusiformis* de sıcaklık 37 °C ışık 2500 lüks ve pH 10'a ayarlanarak çalışılmıştır. Çalışmanın sonucunda *Spirulina platensis*'de protein içeriği %58,6 ve *Spirulina fusiformis* için %61,2 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlara göre iyi bir biyomas ve protein üretimi için *Spirulina* kültürlerinde çevresel faktörlerin etkili olacağı belirtilmiştir (Rafiqul ve ark., 2005).

Bhattacharya ve ark. (2005) yürüttükleri çalışmada *Spirulina*'nın üç türünün, *Spirulina platensis*, *Spirulina maxima* ve *Spirulina lonar*'ın biyokimyasal içeriği ve büyüme modelini kontrollü kültür koşulları altında çalışmışlardır. Kimyasal içeriğine ait klorofil-*a*, fikobiliprotein, β -karoten ve fenolik bileşimlerini analiz etmişlerdir. Bütün fotosentetik pigment konsantrasyonlarının *Spirulina platensis*'de en yüksek olduğunu saptamışlardır. Üç türde β -karoten, C-fikosiyanin ve klorofil-*a* önemli

farklılıklar göstermiş ve *Spirulina*'nın üç türünün optimum büyüme için farklı kültür koşullarına (ışık yoğunluğu ve pH) ihtiyaç duyduklarını bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada azot kullanılabilirliği ve pigmentasyonun ışık yoğunluğu ile arasındaki ilişki tek hücreli kırmızı alg *Galderia sulphuraria* 074G 'nin mikсотrofik ve heterotrofik kültürlerinde araştırılmıştır. *G. sulphuraria*'nin yığın kültürlerinde büyüme sırasında gram kuru ağırlıkta 2-4 mg fikosiyenin içerdiği, yüksek ışık yoğunluğunda düşük ışık yoğunluğuna göre daha az fikosiyenin biriktirdiğini bildirilmiştir (Sloth ve ark. 2006).

Colla ve ark. (2007) yürüttükleri bir çalışmada *Spirulina platensis*'in protein, lipid ve fenolik bileşimleri biyoması üzerine ortamdaki azot yoğunluğu ve sıcaklığın etkisini çalışmışlardır. 35 °C'nin protein, lipid ve fenoliklerin üretiminde pozitif, biyomas üretiminde ise negatif etkili olduğunu bildirmişlerdir.

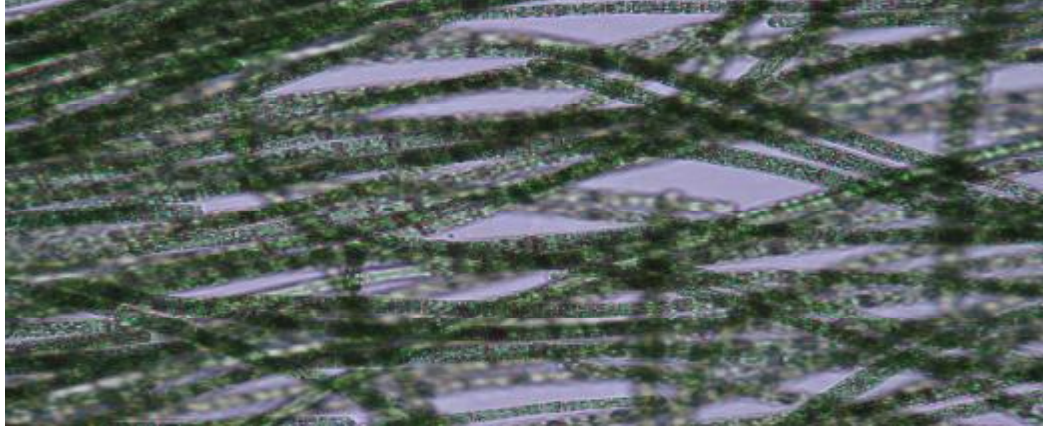
Yapılan bir çalışmada bir sera içinde bulunan farklı kültür düzeneklerinde üretilen *Spirulina*'nın büyüme özellikleri karşılaştırılmıştır. Denemede, şeffaf bidonlar, polietilen torbalar ve ark tipi havuzlar olmak üzere üç tip kültür düzeneği kullanılmıştır. Kültür sıcaklığının daha yüksek olması nedeniyle, bidon kültürlerinde daha yüksek hücre yoğunluğuna ulaşılmıştır. Deneme sonunda ölçülen protein miktarları bidon, torba ve havuz kültürleri için sırasıyla %33.4, %54.5 ve %58.3 olarak belirlenmiştir. Bidon kültürlerindeki protein miktarının diğerlerine göre çok daha düşük oranda bulunmasının nedeni, büyümenin daha hızlı olması ve kültürün durgunluk safhasında fazla kalması nedeniyle ortamdaki azotun tüketilmesi olduğu bildirilmiştir (Göksan ve ark., 2007).

Yapılan bir çalışmada *Arthonema africanum* biyomasının fikobiliprotein, karotenoid ve klorofil-*a* içeriğine sıcaklık (15-50 °C) ve ışık yoğunluğunun (50-300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) etkisi araştırılmıştır. *Arthonema africanum*'un C-fikosiyenin ve allofikosiyenin içerdiği belirlenmiştir. Çalışmada 36 °C ve 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık yoğunluğunda en yüksek total fikobiliproteini saptamışlardır. Kuru alg biyomasında % 23 C-fikosiyenin ve % 12 allofikosiyenin oranlarını belirlemişlerdir. Oldukça düşük (<15 °C) ve yüksek sıcaklıklarda (>47 °C) ışık yoğunluğu ne olursa olsun fikobiliprotein içeriğinin düştüğünü bildirmişlerdir (Chaneva ve ark., 2007).

3. MATERYAL VE METOD**3.1. Materyal****3.1.1. *Spirulina platensis***

Çalışmada mavi-yeşil bir alg (siyanobakteri) olan *Spirulina platensis* türü kullanılmıştır. *Spirulina*, çok hücreli, ipliksi, prokaryotik bir mikroalgdır. Mavi-yeşil algler olarak tanınan *Cyanophyta* filumuna ait *Spirulina*, mitokondri, çekirdek, golgi cisimciği, endoplazmik retikulum ve kofullarının olmaması nedeniyle prokaryotik olarak tanımlanmakta ve benzer hücre çeperine sahip olmaları nedeniyle bakterilere benzetilmektedir (Richmond, 1986). *Spirulina platensis* ve *S. maxima* türlerinde granüler bir sitoplazma vardır ve gaz vakuolleri bulunmaktadır. *Spirulina*'da hücre duvarı bakterilerde olduğu gibi 4 katlı tabakadan oluşur. Müsilaj yapıdaki hücre duvarı çok ince olup yaklaşık 40-60 nm kalınlığındadır. Hücre duvarını oluşturan tabakaların başlıca yapısını peptidoglikan (müreïn) tabakası oluşturur. Hücre duvarının en dış tarafı lipopolissakarit tabakadan oluşur. Hücre duvarının altında sitoplazmayı çevreleyen plasma membranı (plasmalemma) yer almaktadır. Hücrenin kenar bölgeleri çoğunlukla polyglukan ve gaz vakuollerinin yer aldığı, düşük elektron yoğunluğuna sahip sitoplazma ile karakteristiktir. Sitoplazmada glikojen granülleri, siyanofisin granülleri, fibriller ve yağ damlacıkları da bulunmaktadır. Tilakoidler sitoplazma merkezi ile kenarı arasında paralel dizilmiş ve fikobilizomlarla birleşmiştir. Üzerlerinde fotosentetik aparatları içerirler. Düşük elektron yoğunluğuna sahip olan tilakoidlerin boş olanlarında ribosom, DNA fibrilleri ve küçük lipid damlacıkları yer almaktadır. Düz ve spiral haldeki iplikçikler dallanmamış, silindirik hücrelerden oluşmuştur. Flamentler birbirinden bağımsız, serbest olarak bulunurlar ve kayma hareketi gösterirler (Vonshak, 1997). Hücre çapları türlere göre değişmektedir. Hücreler küçük boyutlu türlerde 1-3 mikrometre, daha büyük türlerde 3-12 mikrometre çapındadır (Richmond, 1986). Fotosentetik organizmalar için ışığın en önemli faktör olduğu bilinmektedir. *Spirulina* fotoototrofik olarak büyüyen diğer pek çok alg gibi esas enerji kaynağı olarak ışığa bağımlıdır. Bununla birlikte *Spirulina* nın heterotrofik olarak, glukoz varlığında da büyüebildiği belirlenmiştir. *Spirulina*'nın ışığa olan tepkisini belirlemeye yönelik

laboratuar çalışmalarının çoğu fotoototrofik büyüme koşullarında, mineral ortam ve karbon kaynağı olarak sadece bikarbonatın kullanıldığı koşullarda gerçekleştirilmiştir. İlk detaylı çalışma 1966 da Zarrouk tarafından *S.maxima*'nın ışığa olan tepkisi üzerinde olmuştur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Denemede Kullanılan *Spirulina platensis*

3.1.2. Denemede Kullanılan Havuzlar

Denemede 1x5x0.2 m boyutlarında, 1 m³ kapasiteli, fiber-glass 3 adet havuz kullanılmıştır (Şekil 3.2). Havuzlarda karışım pedal sistemi ile sağlanmıştır (Şekil 3.3). Karıştırma hızı 20 cm s⁻¹ olacak şekilde ayarlanmıştır. Havuzlar Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakülte binası çatısında bulunan sera içerisinde yer almaktadır.



Şekil 3.2. Denemede Kullanılan Havuzlar



Şekil 3.3. Karışımı Sağlayan Pedal Sistemi

3.1.3. Kültür Ortamı

Denemede *S. platensis*'in üretiminde *Spirulina* ortamı kullanılmıştır. Kültür ortamının içeriği Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemede Kullanılan *Spirulina* Ortamı

Ortam-Solüsyon	Madde	Miktar
Kısım 1	NaHCO ₃	18.6g
	Na ₂ CO ₃	8.06
	K ₂ HPO ₄	1.00g
	Distile su	500.0ml
Kısım 2	NaNO ₃	5.00g
	K ₂ SO ₄	2.00g
	NaCl	2.00g
	MgSO ₄ .7H ₂ O	0.40g
	CaCl ₂ .2H ₂ O	0.02g
	FeSO ₄ .7H ₂ O	0.02g
	EDTANa ₂	0.16g
	Mikro Element Solüsyonu	10.0ml
	Vitamin Solüsyonu	5.00ml
	Distile su	500.0ml
Mikro element Solüsyonu	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.001g
	MnSO ₄ .7H ₂ O	0.002g
	H ₃ BO ₃	0.01g
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.001g
	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0.001g
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.00005g
	FeSO ₄ .7H ₂ O	0.7g
	EDTANa ₂	0.8g
	Distile su	1.0L

3.1.4. *Spirulina platensis* Stok Kültürleri

Denemede aşı olarak kullanılmak üzere üretilen *S. platensis*, iklimlendirme cihazı kullanılarak 30±1 °C’de sabitlenmiş oda sıcaklığında ve 80 µmol m⁻² s⁻¹ ışık şiddetinde sürekli aydınlanmanın sağlandığı laboratuvar koşullarında tutulmuştur

(Şekil 3.4). Stoklar 250 ml'lik erlenlerde üretime alınmış ve laboratuvar koşullarında 500 ml, 2L, 5L, 10L ve 20 litrelik kavanozların aşılmasında kullanılmışlardır. 20 L hacmindeki stoklar ise havuzların aşılmasında kullanılmıştır.



Şekil 3.4. Denemede Kullanılan *S.platensis* Stok Kültürleri

3.1.5. Hasat Düzenegi

S. platensis kültürlerinin hasatı, filtrasyon yoluyla, doğal yerçekiminden yararlanarak, 200 µm, 100 µm ve 45 µm göz açıklığına sahip plankton bezlerinden yararlanılarak yapılmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Hasat Düzeneği

3.2 Metod

İlkbahar, Yaz ve Sonbahar mevsimlerinde kültüre alınan *Spirulina* biyomasında mavi renkli pigment C-fikosiyanin verimliliğinin karşılaştırılması ve protein miktarı belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmada 3 havuz kullanılmıştır. Havuzlar naylon sera içerisinde bulunmaktadır. Üç tekrarlı planlanan çalışma, ilkbahar mevsiminde Nisan ayında 14 gün, yaz mevsiminde Temmuz ayında 8 gün ve sonbahar mevsiminde Eylül ayında 15 günde tamamlanmıştır. Denemenin başladığı günden itibaren günlük olarak sıcaklık, pH, aydınlık şiddeti, oksijen ve optik yoğunluk ölçümleri yapılmış, kuru madde, C-fikosiyanin ve klorofil-*a* analizleri yapılarak miktarları belirlenmiştir. Denemenin bitiminden sonra elde edilen biyomas ile protein analizi yapılmıştır.

3.2.1. Denemenin Kurulması

Laboratuarda tutulan ve aşı olarak kullanılacak olan 20 L hacmindeki stok kültürler aşılama işleminden 24 saat önce, dışarı ortam koşullarına uyum sağlaması için denemenin yürütüleceği sera ortamına taşınmıştır.

Kültürler için kullanılacak ve *Spirulina* ortamını oluşturan besleyici elementler sertliği giderilmiş suda çözünerek havuzlara ilave edilmiş ve üzeri çeşme suyu ile 500 L'ye tamamlanarak havuzlardaki kültür yüksekliğinin 10 cm olması sağlanmıştır. Üç havuza da besi ortamı eklemeleri yapıldıktan ve *Spirulina* ortamının içerdiği elementlerin çözünmesi sağlandıktan sonra her bir havuza 150 L aşı eklenerek deneme başlatılmıştır.

3.2.2. Deneme Süresince Günlük Yapılan Analizler**3.2.2.1. Kuru Madde Analizi**

Kuru madde miktarlarının saptanması için, günlük olarak her üç havuzdan 50 şer mL mikroalg kültürü alınmıştır. Daha önce 105 °C'de 1 saat etüvde tutulmuş, desikatörde soğutulmuş ve darası alınmış 0.45 µ göz açıklığındaki Whatman GF/C filtre kağıtlarından, süzme düzeneği ve bir su trombu kullanılarak oluşturulan vakum yardımıyla *Spirulina* iplikleri ortamdan ayrılarak yoğunlaştırılmıştır. Yoğunlaştırılmış iplikler, HCL ile pH'ı 4 e ayarlanmış olan solüsyon ile yıkanmıştır. 0.001 g duyarlı terazide ağırlıkları alınmış petri kapları içerisinde belirli miktarlarda tartılarak, önceden 105 °C'ye getirilen etüvde 2 saat tutulmuştur. Bu süre sonunda petri kapları bir desikatöre konularak, oda sıcaklığına kadar soğumaları sağlanmış ve daha sonra 0.001 g duyarlı terazide tartımları yapılmıştır. Örnekler yaş iken yapılan tartım sonucu elde edilen değerden, kurutulduktan sonraki tartım değeri çıkarılarak kuru madde miktarı hesaplanmış ve % değerler elde edilmiştir (Vonshak, 1997).

3.2.2.2. Klorofil-a Analizi

Kültürlerin klorofil-a miktarlarını saptamak için aşağıdaki işlem sırası izlenmiştir;

- VOLLENVEIDER ve ark. (1974)'nın bildirdiğine göre, TALLING ve DRIVER (1963)'in klorofil tayin yöntemlerinde belirtildiği gibi, çözücü sıvı olarak % 90'lık Methanol kullanılmıştır.
- 15 ml'lik pyrex tüpler alınmıştır.
- Bir filtre düzeneğine yerleştirilen 0.45 µ göz açıklığındaki filtre kağıdından 5 ml kültür süzölmüştür.
- Süzölmüş alg hacmini taşıyan kağıt, dörde katlanarak tüp içerisine yerleştirilmiştir.
- Bir cam çubuk yardımıyla filtre kağıdı ezilmiştir.
- Üzerine 5 ml % 90'lık Methanol eklenmiştir.
- Tüp veya tüpler, önceden hazırlanan 60-70 °C'ye ısıtılan su banyosuna konmuş ve tüplerin ağzı küçük cam ampullerle kapatılmıştır.
- Tüpler 2 dakika süreyle su banyosunda soğutulmuş ve 3500 rpm 'de santrifüj edilmişlerdir.
- Bir pastör pipeti yardımıyla dipteki tortuya dokunmadan ekstrakte klorofil *a* içeren methanol, spektrofotometrede okunmak üzere 1 cm ışık yolu (path lenght) uzunluğundaki cam küvetlere konmuştur.

TALLING ve DRIVER (1963)'ün önerisine göre spektrofotometrede okuma, 665 µm dalga boyunda yapılmış ve µg/ml olarak klorofil *a* miktarı aşağıdaki eşitlikte hesaplanmıştır;

$$\text{Chl. A} = 13.9.D665$$

Ayrıca, her bir örnek 750 nm dalga boyunda okunarak, okunan değer 665 nm'de okunan değerden çıkarılmıştır. Böylece kl-*a* değerleri hesaplanmadan önce bulanıklık düzeltilmesi yapılmıştır. 750 nm'de okunan değer normal olarak 0.005'den az olması gerekmektedir (VOLLENVEIDER ve ark, 1974).

3.2.2.3. Fikosiyanin analizi

Kültürlerin C-fikosiyanin miktarlarını saptamak için aşağıdaki işlem sırası izlenmiştir;

- § Analize başlamadan önce fikosiyanin çıkarımı için kullanılacak çözeltiler (15 gram NaNO₃ 1 lt distile suda eritildi) hazırlanmıştır.

- § Her üç havuzdan 10'ar litre kültür hasat edilmiş ve biyomas 55 °C de kurutulmuştur.
- § Analiz için 1 gram toz *Spirulina* tartılmış ve cam beher içerisine alınmıştır.
- § Üzerlerine 100 ml NaNO₃ çözeltisi eklenmiştir.
- § 2 saat süreyle karıştırıcıda bekletilmiştir.
- § 5'er ml örnek cam tüplere alınarak santrifüjde 3500-5000 rpm'de 5 dk tutulmuştur.
- § Örnekler spektrofotometrede 620 nm dalga boyunda okunmuştur.

Okunan değerlerden aşağıdaki eşitlik kullanılarak C-fikosiyanin miktarı (µg/ml) hesaplanmıştır (Boussiba ve Richmond, 1979).

$CPC = OD\ 620\ nm \times 137 = \mu g/mL^{-1}$ (137, *Spirulina* için absorpsiyon katsayısından belirlenen faktör) (Boussiba ve Richmond, 1979). Denemeden elde edilen C-fikosiyanin (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Denemeden Elde Edilen C-Fikosiyanin

3.2.2.4. Hasat

Denemenin sona erdirilmesinden hemen sonra kültürler hasat düzeneğinde süzölmüştür. Protein analizi için her üç havuzdan 20'şer L hasat edilmiştir ve yaş materyal 55 °C'de iki saat kurutma dolabında kurutulmuştur.

3.2.2.5. Protein Analizi

Toplam ham protein Kjeldahl metoduna (AOAC, 1998) göre yapılmıştır. Protein analizine başlamadan önce analiz için gerekli olan solüsyonlar hazırlanmıştır.

Solüsyonların Hazırlanması

- § % 40'lık NaOH hazırlanmıştır (40gr NaOH 100 ml tamamlandı).
- § Her örnek için 20 ml saf sülfirik asit hazırlanmıştır.
- § Her örnek için 25 ml özel hazırlanmış borik asit ağırlıklı çözelti kullanılmıştır.
- § Analiz için Khiydal protein katalizörü (2 gr) kullanılmıştır.

Protein Analizinin Yapılışı

- § Her bir örnek için 1'er gr kurutulmuş *Spirulina* kullanılmıştır.
- § Khiydal tüplerine, kör hariç 1'er gr kurutulmuş *Spirulina* örneği konulmuştur.
- § Körde dahil üzerlerine 2 gr Khiydal protein katalizörü ilave edilmiştir.
- § Körde dahil üzerlerine 20'şer ml'lik sülfirik asit ilave edilmiştir.
- § Yaklaşık 2-2,5 saat örnekler yakma ünitesine konulmuştur ve renkleri yeşil oluncaya kadar bekletilmiştir.
- § Yakma ünitesinden çıkarılan örneklerin soğuması için bir süre beklenmiştir.
- § Soğuyan örneklerin üzerine 75 ml saf su eklenmiştir.
- § Örnek sayısı kadar erlen alınmış ve erlenlerin içerisine 25 ml özel hazırlanmış borik asit ağırlıklı çözeltiden ilave edilip Khiydal cihazında yerlerine yerleştirilmiştir.

§ Daha sonra biriktirilen solüsyona (N’lu bileşikler ~200 ml) titrimetrik yöntemle örnek rengi mor oluncaya kadar 25 ml-100 ml arasında HCl eklenmiştir.

§ Kör için 0.1 ml’lik HCl sarfiyatı olmuştur.

Örnekler aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır;

$$\%N = \frac{14.01 \times (A-B) \times M}{g \times 10} \times 100$$

g x10

$$\% \text{Protein} = \%N \times 6.25$$

A: Örnek için sarf edilen HCl miktarı

B: Kör için sarf edilen HCl miktarı

M: Asit molaritesi

g: Örnek miktarı

Protein analizinde kullanılan Khielдал cihazı (Şekil 3.7.).



Şekil.3.7. Khielдал Cihazı

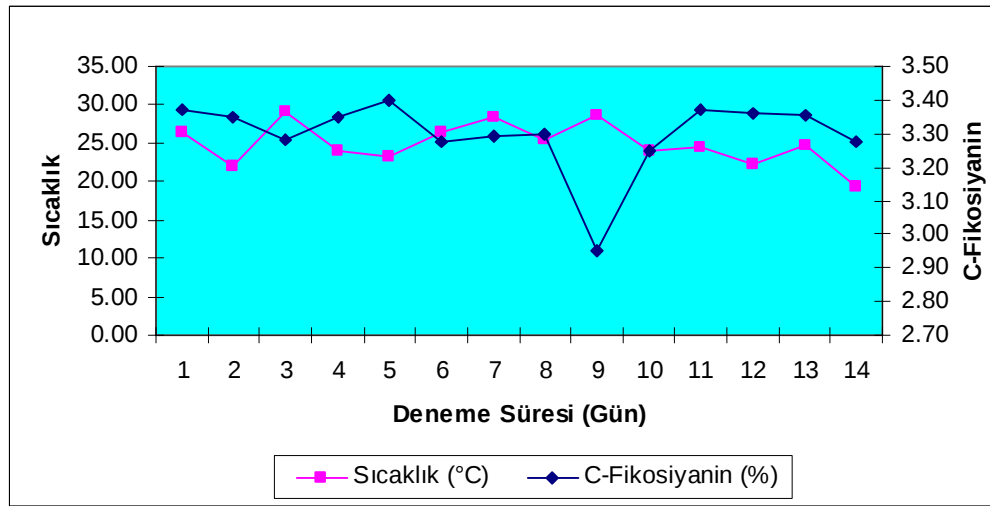
Araştırma verilerinin değerlendirilmesi sırasında, ortalamaların karşılaştırılmasında SPSSX 10.0 paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Çukurova iklim koşullarında mevsimin *Spirulina platensis* kültüründeki C-fikosiyanin miktarına etkisini belirlemek amacıyla ilkbahar, yaz ve sonbahar mevsimlerinde yürütülen çalışmada sıcaklık (°C), pH, aydınlık şiddeti ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), oksijen (mg L^{-1}) ölçümleri yapılmış, optik yoğunluk, klorofil-*a* (mg L^{-1}), C-fikosiyanin ($\mu\text{g/ml}$), protein (%) ve kuru ağırlık miktarları (g L^{-1}) belirlenmiştir. Denemeden elde edilen bulgular ilkbahar, yaz ve sonbahar dönemi olarak üç bölümde ele alınmıştır.

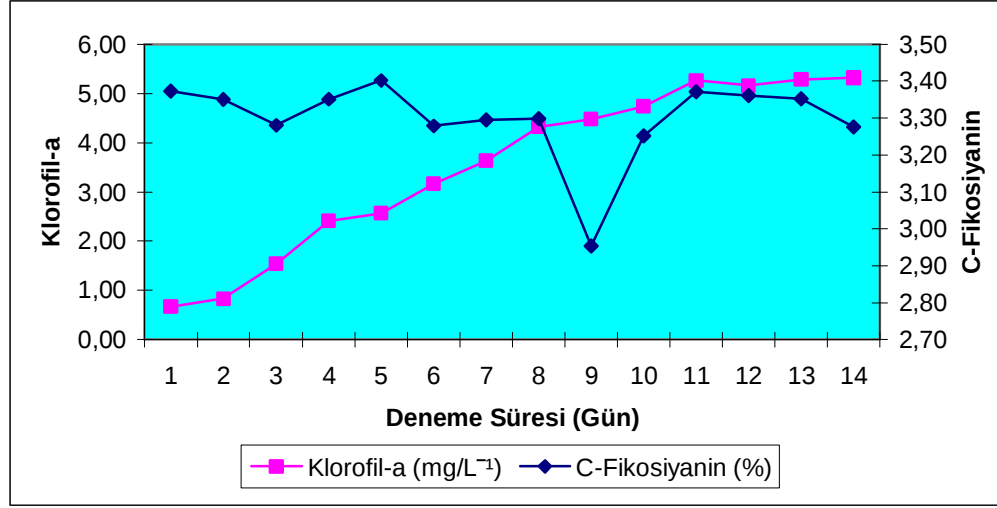
4.1. İlkbahar Dönemi (Nisan)

Nisan ayında elde edilen en yüksek ve en düşük sıcaklık değerleri sırasıyla 29.13 ± 0.7 °C ve 19.23 ± 0.7 °C belirlenirken ortalama sıcaklığın 24.87 ± 0.7 °C olduğu saptanmıştır. En yüksek ve en düşük C-fikosiyanin değerleri sırasıyla 340 ± 0.02 $\mu\text{g/ml}$ ve 295 ± 0.02 $\mu\text{g/ml}$ olarak kaydedilirken, ortalama C-fikosiyanin değeri 329 ± 0.02 $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlenmiştir. Nisan döneminde fikosiyanin ve sıcaklık değerleri arasındaki ilişki önemsiz olduğu bulunmuştur ($p > 0.05$). Üretim sırasında ölçülen C-fikosiyanin ve sıcaklık değerleri şekil 4.6’da verilmiştir.



Şekil 4.1. Nisan Ayı Sıcaklık ve C-fikosiyanin Değerleri

Havuzlardan elde edilen en yüksek klorofil-*a* değeri $5.31 \pm 0.44 \text{ mg L}^{-1}$ ve en düşük klorofil-*a* değeri $0.66 \pm 0.44 \text{ mg L}^{-1}$, olarak belirlenirken ortalama klorofil-*a* değeri $3.52 \pm 0.44 \text{ mg L}^{-1}$ olarak saptanmıştır. Belirlenen klorofil-*a* ve C-fikosiyanin değerleri şekil 4.7’de verilmiştir.

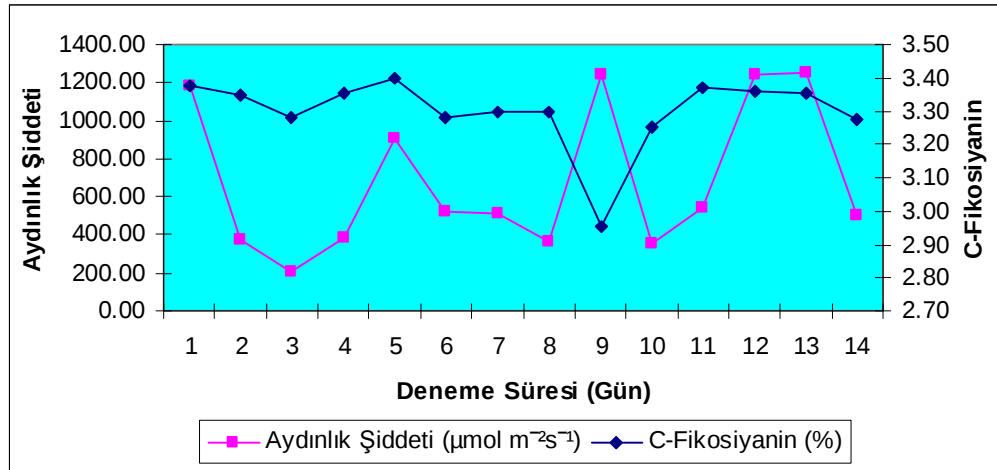


Şekil 4.2. Nisan Ayı Klorofil-*a* ve C-Fikosiyanin Değerleri

Nisan ayı deneme süresince günlere bağlı olarak ölçülen aydınlık şiddeti değerleri Çizelge 4.2.’de verilmektedir. Ölçülen en yüksek, en düşük ve ortalama aydınlık şiddeti değerleri sırasıyla $1249.23 \pm 103.89 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $202.38 \pm 103.89 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ve $684.41 \pm 103.89 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Nisan ayında C-fikosiyanin ve aydınlık değerleri arasındaki ilişki önemsiz olduğu bulunmuştur ($p > 0.05$) Aydınlık şiddetine bağlı C-fikosiyanin düzeyleri Şekil 4.8. ‘de verilmiştir.

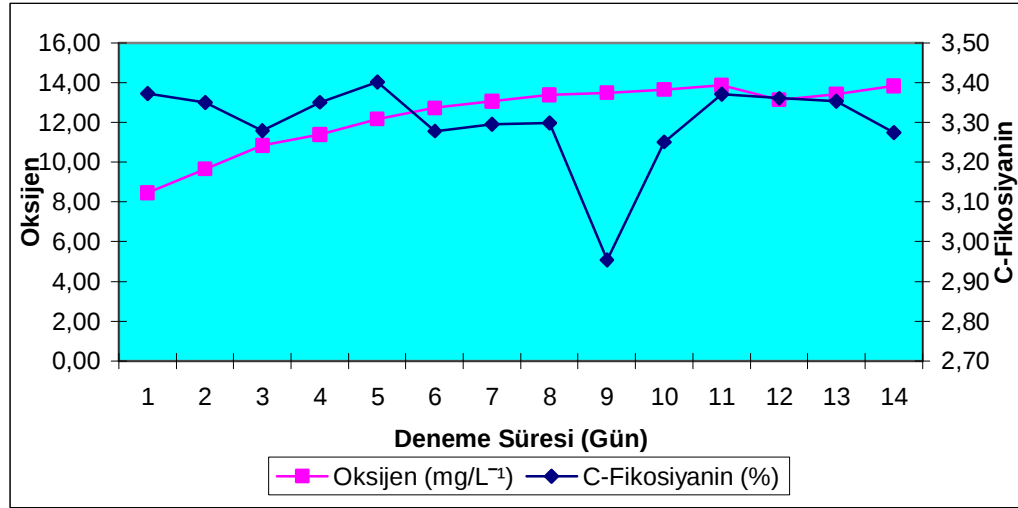
Çizelge 4.1. Nisan Ayı Aydınlık Şiddeti Değerleri

Günler	Aydınlık Şiddeti ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
1	1178.40
2	377.57
3	202.38
4	385.33
5	902.53
6	521.67
7	510.43
8	366.53
9	1242.80
10	357.63
11	541.43
12	1240.40
13	1249.23
14	505.40
Ortalama	684.41±103.89



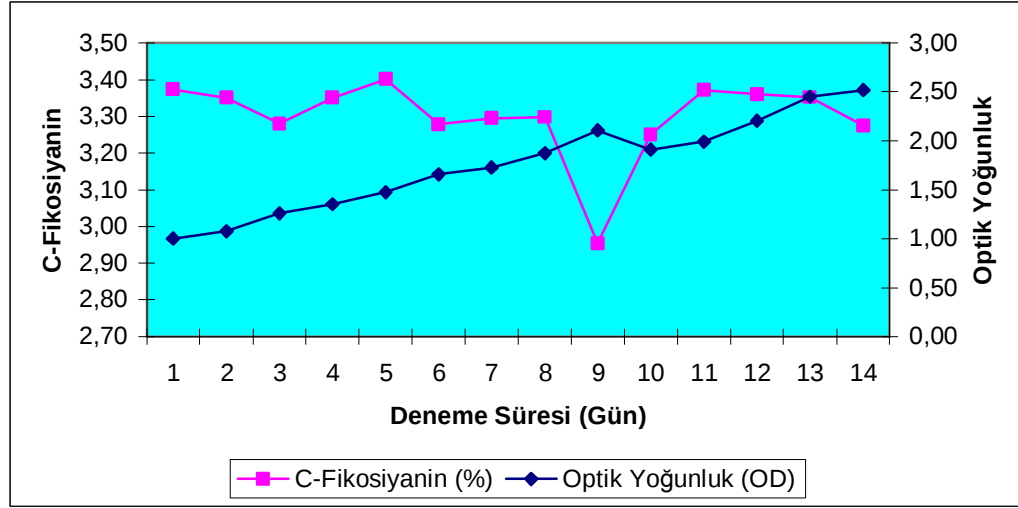
Şekil 4.3. Nisan Ayı Aydınlık Şiddeti ve C-fikosiyanin Değerleri

Denemede ölçülen en yüksek, en düşük ve ortalama oksijen değerleri sırasıyla $13.87 \pm 0.44 \text{ mg L}^{-1}$, $8.45 \pm 0.44 \text{ mg L}^{-1}$ ve $12.37 \pm 0.44 \text{ mg L}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Denemeden elde edilen oksijen değerleri ile C-fikosiyanin içerikleri Şekil 4.9’da verilmiştir.



Şekil 4.4. Nisan Ayı Oksijen ve C-fikosiyanin Değerleri

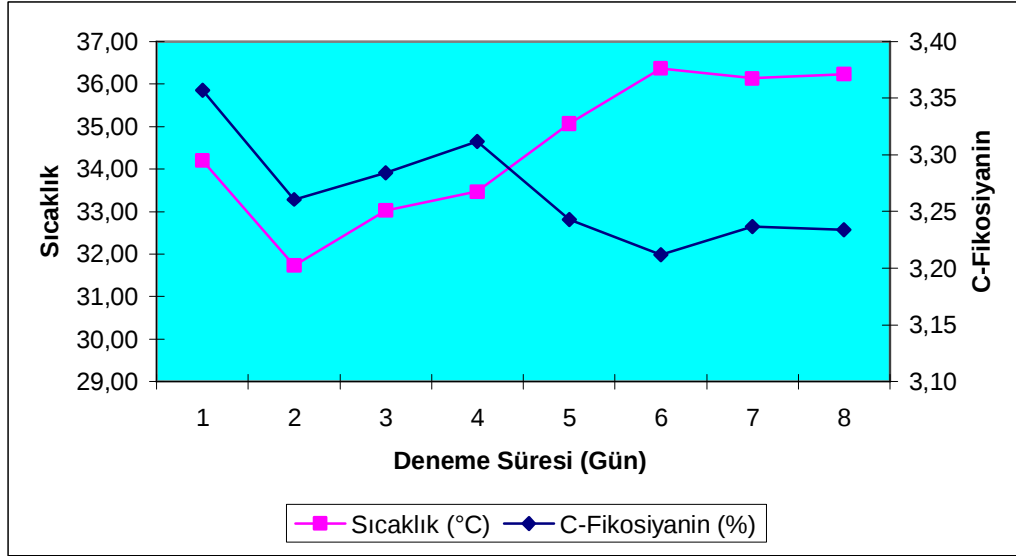
Denemedeki havuzlara ait ortalama pH değeri 9.89 ± 0.04 olup bahar döneminde en düşük ve en yüksek pH değerleri 9.54 ± 0.04 ve 10.16 ± 0.04 olarak belirlenmiştir. Optik yoğunluk ortalama 1.75 ± 0.12 olarak belirlenmiş ve en yüksek optik yoğunluğu olan 2.52 ± 0.12 'ye denemenin 14. günü ulaşılmıştır. En düşük optik yoğunluk 1.00 ± 0.12 olarak belirlenmiştir. Deneme süresince üç havuza ait kültür ortamlarında C-fikosiyanin ve optik yoğunluğun birlikte değişimi Şekil 4.10.'da verilmiştir.



Şekil 4.5. Nisan Ayı Optik Yoğunluk ve C-fikosiyanin

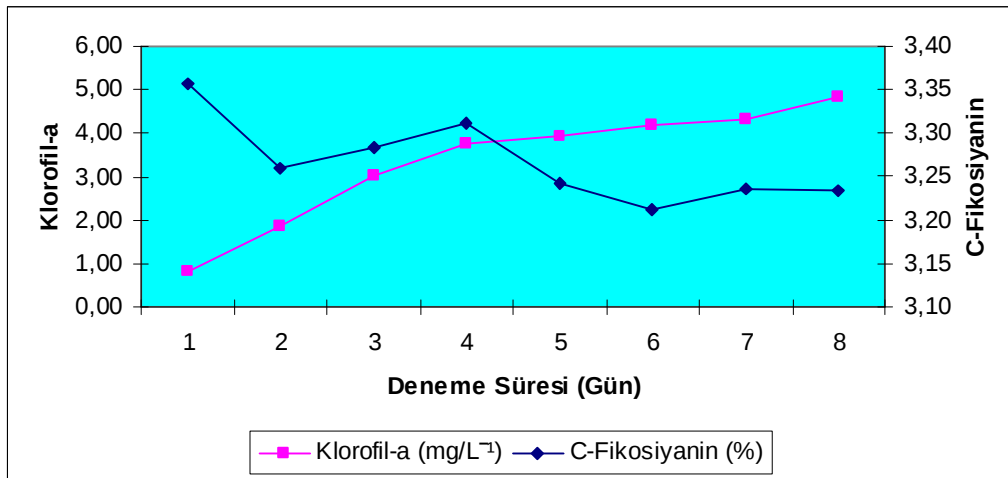
4.2. Yaz Dönemi (Temmuz)

Temmuz ayı deneme süresince gündüz elde edilen en yüksek, en düşük ve ortalama sıcaklık değerleri sırasıyla 36.3 ± 0.60 °C, 31.7 ± 0.60 °C ve 34.5 ± 0.60 °C olarak belirlenmiştir. En yüksek C-fikosiyanin değeri 335 ± 0.01 µg/ml olarak belirlenirken, en düşük C-fikosiyanin değeri 321 ± 0.01 µg/ml ve ortalama C-fikosiyanin değeri 326 ± 0.01 µg/ml olarak belirlenmiştir. Temmuz ayında fikosiyanin ve sıcaklık değerleri arasındaki ilişki önemsiz olduğu bulunmuştur ($p > 0.05$) Üretim sırasında saptanan C-fikosiyanin-sıcaklık değerleri Şekil 4.6.'de verilmiştir.



Şekil 4.6. Temmuz Ayı Sıcaklık ve C-fikosiyanin Değerleri

Havuzlardan ölçülen en yüksek ve en düşük klorofil-*a* değerleri sırasıyla $4.83 \pm 0.48 \text{ mg L}^{-1}$ ve $0.81 \pm 0.48 \text{ mg L}^{-1}$ belirlenmiştir. Deneme boyunca elde edilen klorofil-*a* ortalaması $3.33 \pm 0.48 \text{ mg L}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Deneme süresince elde edilen klorofil-*a* ve C-fikosiyanin değerleri günlere bağlı olarak Şekil 4.2.'de verilmiştir.

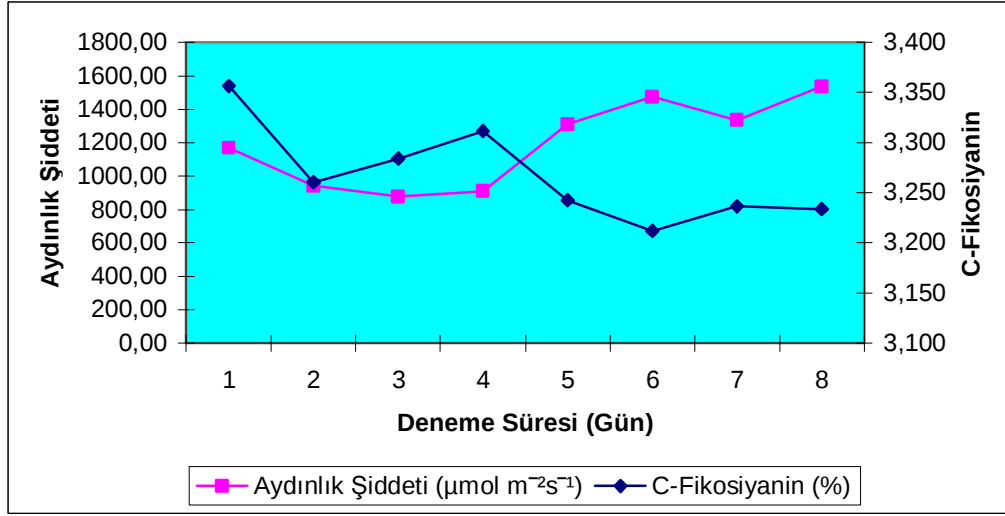


Şekil 4.7. Temmuz Ayı Klorofil-a ve C-fikosiyanin Değerleri

Temmuz ayı deneme süresince günlere bağlı olarak ölçülen aydınlık şiddeti değerleri Çizelge 4.1.'de verilmektedir. Ölçülen en yüksek, en düşük ve ortalama aydınlık şiddeti değerleri sırasıyla $1538.43 \pm 92.04 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $879.83 \pm 92.04 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ve $1195.08 \pm 92.04 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ dir. Temmuz ayında fikosiyanin ve aydınlık değerleri arasındaki ilişki önemsiz olduğu bulunmuştur ($p > 0.05$). Aydınlık şiddetine bağlı C-fikosiyanin düzeyleri Şekil 4.3.'de verilmiştir.

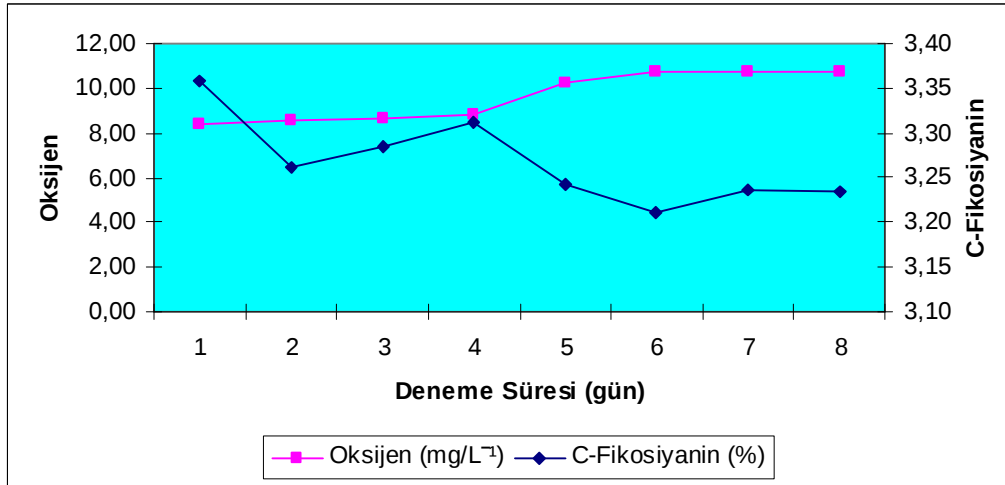
Çizelge 4.2. Temmuz Ayı Aydınlık Şiddeti Değerleri

Günler	Aydınlık Şiddeti ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
1	1169.667
2	941.566
3	879.833
4	911
5	1309.167
6	1476.167
7	1334.8
8	1538.433
Ortalama	1195.08 ± 92.04



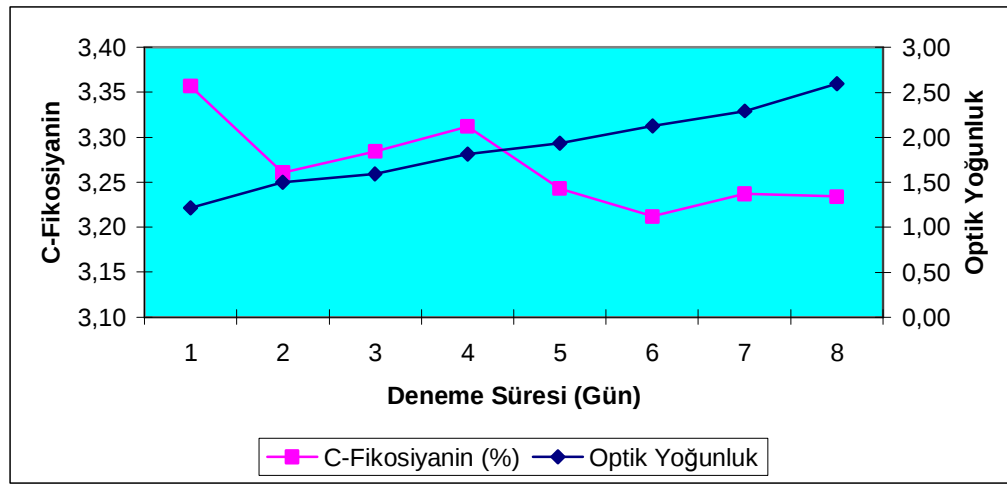
Şekil 4.8. Temmuz Ayı C-fikosiyanin ve Aydınlik Şiddeti Değerleri

Havuzlardan ölçülen en yüksek, en düşük ve ortalama oksijen değerleri sırasıyla $10.76 \pm 0.38 \text{ mg L}^{-1}$, $8.41 \pm 0.38 \text{ mg L}^{-1}$ ve $9.60 \pm 0.38 \text{ mg L}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Deneme süresince elde edilen oksijen değerleri ile C-fikosiyanin değerleri günlere bağlı olarak Şekil 4.4.'de verilmiştir.



Şekil 4.9. Temmuz Ayı C-fikosiyanin ve Oksijen Değerleri

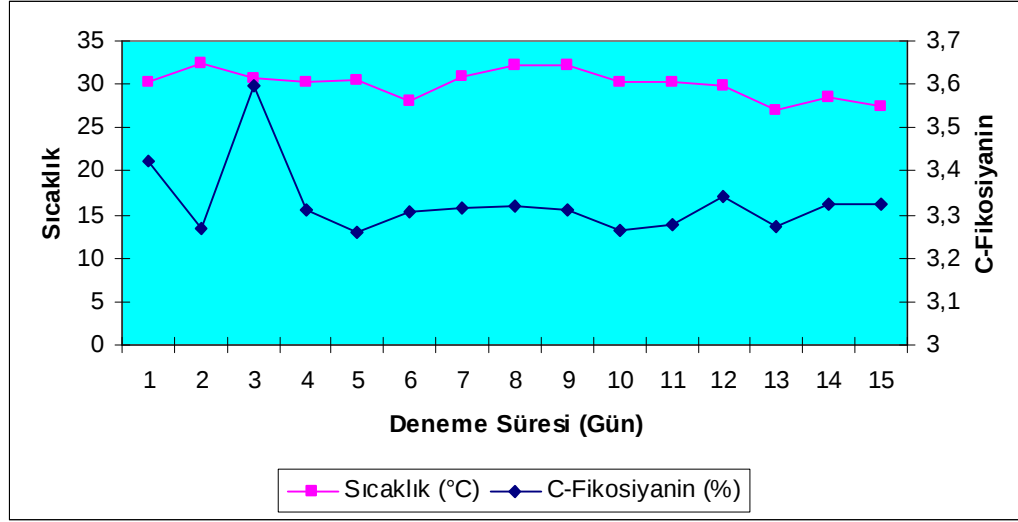
Denemedeki havuzlara ait ortalama pH değeri 9.55 ± 0.04 olup yaz döneminde en düşük ve en yüksek pH değerleri 9.43 ± 0.04 ve 9.71 ± 0.04 olarak belirlenmiştir. Optik yoğunluk ortalama 1.88 ± 0.15 olarak belirlenmiş ve en yüksek optik yoğunluğu olan 2.59 ± 0.15 'e denemenin 8. günü ulaşılmıştır. En düşük optik yoğunluk 1.21 ± 0.15 olarak belirlenmiştir. Deneme süresince üç havuza ait kültür ortamlarında optik yoğunluğun ve C-fikosiyaninin birlikte değişimi Şekil 4.5.'de verilmiştir.



Şekil 4.10. Temmuz Ayı C-Fikosiyanin ve Optik Yoğunluk Değerleri

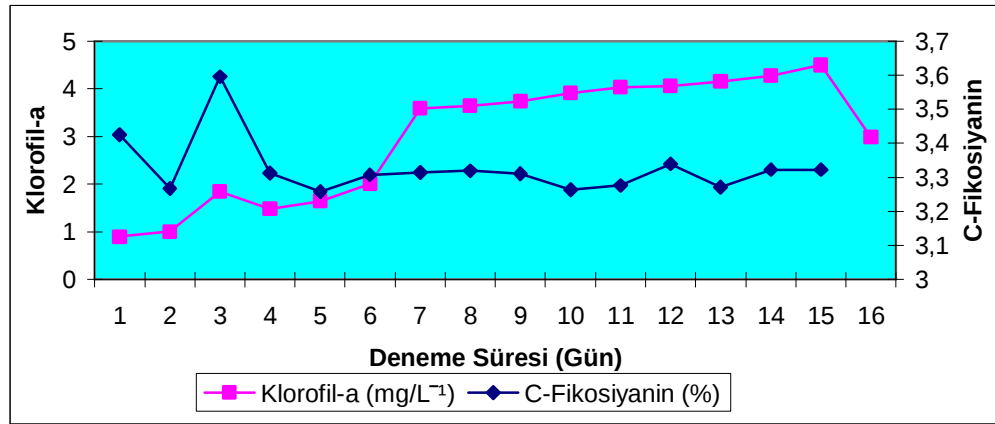
4.3.Sonbahar Dönemi (Eylül)

Eylül ayında havuzlarda belirlenen en yüksek, en düşük ve ortalama sıcaklık değerleri sırasıyla 32.50 ± 0.43 °C, 26.95 ± 0.43 °C ve 30.04 ± 0.43 °C dir. Havuzlardan saptanan en yüksek, en düşük ve ortalama C-fikosiyanin içerikleri sırasıyla 359 ± 0.02 µg/ml, 325 ± 0.02 µg/ml ve 332 ± 0.02 µg/ml olarak belirlenmiştir. Eylül ayında fikosiyanin ve sıcaklık değerleri arasındaki ilişki önemsiz olduğu bulunmuştur ($p > 0.05$). Denemenin sıcaklık ve C-fikosiyanin değerleri Şekil 4.11.'de verilmiştir.



Şekil 4.11.Eylül Ayı Sıcaklık ve C-fikosiyanin Değerleri

Kültürlerde saptanan en yüksek klorofil-*a* değeri $4.496 \pm 0.34 \text{ mg L}^{-1}$, en düşük klorofil-*a* değeri ise $0.896 \pm 0.34 \text{ mg L}^{-1}$ ve ortalama klorofil-*a* değeri ise $2.984 \pm 0.34 \text{ mg L}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Denemeden elde edilen klorofil-*a* ve C-fikosiyanin değerleri şekil 4.12.'de verilmiştir.

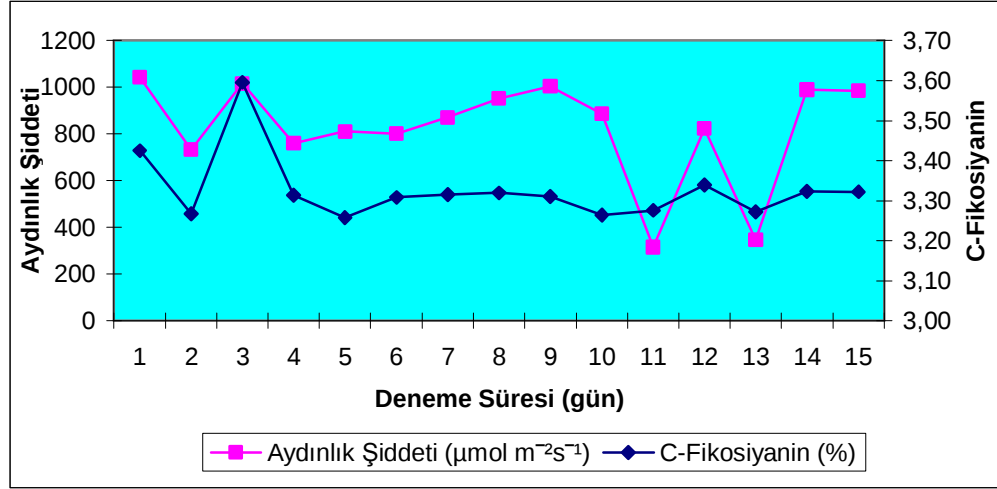
Şekil 4.12. Eylül Ayı klorofil-*a* ve C-fikosiyanin Değerleri

Deneme süresince günlere bağlı olarak ölçülen aydınlık şiddeti değerleri Çizelge 4.3'de verilmektedir. Ölçülen en yüksek, en düşük ve ortalama aydınlık şiddeti değerleri sırasıyla $1041.95 \pm 57.48 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $315.40 \pm 57.48 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ve

822.46±57.48 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Eylül ayında fikosiyanin ve aydınlık şiddeti değerleri arasındaki ilişki önemsiz olduğu bulunmuştur ($p > 0.05$). Aydınlık şiddetine bağlı C-fikosiyanin düzeyleri Şekil 4.13.'de verilmiştir.

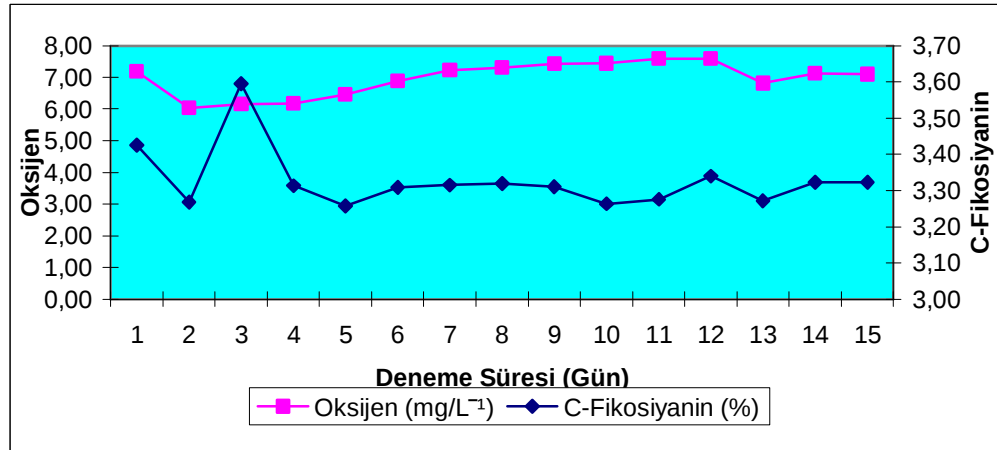
Çizelge 4.3. Eylül Ayı Aydınlık Şiddeti Değerleri

Günler	Aydınlık Şiddeti ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
1	1041.95
2	731.95
3	1016.25
4	759.9
5	810.25
6	802.1
7	870.55
8	952.55
9	1004.55
10	886.95
11	315.4
12	823.8
13	345.65
14	989.35
15	985.75
Ortalama	822.46±57.48



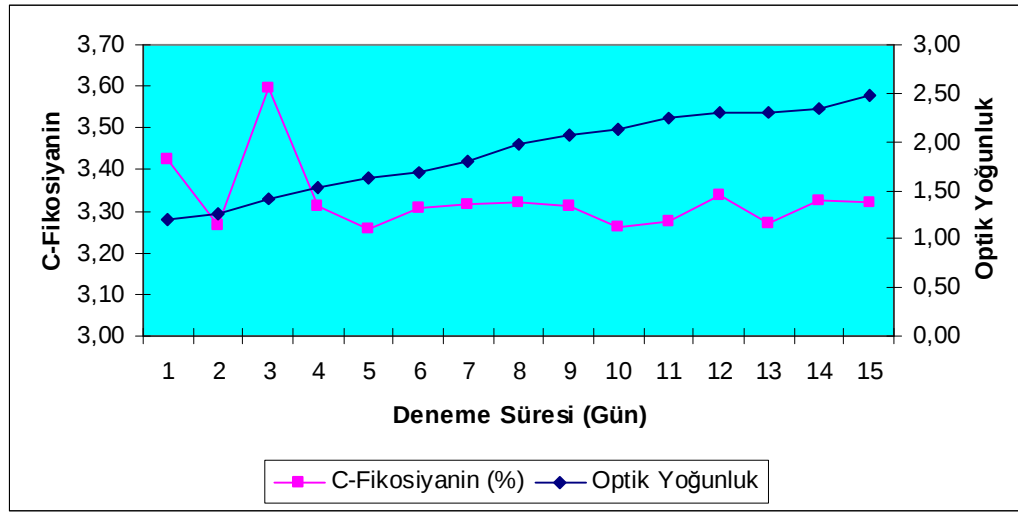
Şekil 4.13. Eylül Ayı Aydınlık Şiddeti ve C-fikosiyanin Değerleri

Eylül ayında ölçülen en yüksek, en düşük ve ortalama oksijen değerleri sırasıyla $7.60 \pm 0.13 \text{ mg L}^{-1}$, $6.03 \pm 0.13 \text{ mg L}^{-1}$ ve $6.97 \pm 0.13 \text{ mg L}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Denemeden elde edilen C-fikosiyanin değerleri ve oksijen değerleri şekil 4.14.'de verilmiştir.



Şekil 4.14. Eylül Ayı Oksijen ve C-fikosiyanin Değerleri

Denemedeki havuzlara ait ortalama pH değeri 9.70 ± 0.04 olup sonbahar döneminde en düşük ve en yüksek pH değerleri 9.38 ± 0.04 ve 9.96 ± 0.04 olarak belirlenmiştir. Optik yoğunluk ortalama 1.88 ± 0.10 olarak belirlenmiş ve en yüksek optik yoğunluğa 2.47 ± 0.10 ile denemenin 15. günü ulaşılmıştır. En düşük optik yoğunluk 1.19 ± 0.10 olarak belirlenmiştir. Deneme süresince üç havuza ait kültür ortamlarında C-fikosiyanin ve optik yoğunluğun birlikte değişimi Şekil 4.15’de verilmiştir.



Şekil 4.15. Eylül Ayı C-Fikosiyanin ve Optik Yoğunluk Değerleri

İlkbahar, Yaz ve Sonbahar mevsimlerinde elde edilen C-fikosiyanin, protein, sıcaklık, klorofil-*a*, aydınlık şiddeti, oksijen, optik yoğunluk, pH ve kuru madde değerleri istatistiki olarak mevsimlere göre karşılaştırılmış ve Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4. C-fikosiyanin, Protein, Sıcaklık, Klorofil-*a*, Aydınlık Şiddeti, Oksijen, Optik Yoğunluk, pH ve Kuru Madde değerlerinin İlkbahar, Yaz ve Sonbahar mevsimlerine göre durumu.

	İlkbahar	Yaz	Sonbahar
C-fikosiyanin (µg/ml, mak.)	329.91±0.029 ^a	326.75±0.016 ^a	332.71±0.021 ^a
Protein (%) (Büyüme sonu)	68.15±0.52 ^a	68.16±2.13 ^a	72.09±1.04 ^a
Sıcaklık (°C ort.)	24.87±0.74 ^c	34.52±0.60 ^a	30.03±0.43 ^b
kl-<i>a</i> (mg L⁻¹) (Büyüme sonu)	531.75±48.65 ^b	483.56±144.24 ^a	449.65±139.00 ^a
Aydınlik Şiddeti (µmol m ⁻² s ⁻¹ ort.)	684.40±103.89 ^b	1195.08±92.04 ^a	822.46±57.48 ^b
Oksijen (mg L ⁻¹ ort.)	12.36±0.44 ^a	9.60±0.38 ^b	6.97±0.13 ^c
Optik Yoğunluk (Büyüme sonu)	2.521±0.02 ^a	2.597±0.08 ^a	2.476±0.04 ^a
pH (ort.)	9.88±0.044 ^a	9.55±0.040 ^c	9.70±0.049 ^b
Kuru Madde, g L⁻¹ (Büyüme sonu)	1.036±0.06 ^b	1.351±0.11 ^a	1.239±0.06 ^{ab}

5.TARTIŞMA

İlkbahar, yaz ve sonbahar mevsimlerinde kültüre alınan *S. platensis* deki C-fikosiyenin pigmenti miktarının, mevsime bağlı sıcaklık ve aydınlık şiddeti değişiminden etkilenip etkilenmediğini belirlemek üzere planlanan çalışmada, ilkbahar, yaz ve sonbahar dönemindeki kültürlerde büyüme periyodu sonunda, ortalama C-fikosiyenin miktarları karşılaştırılmıştır. Nisan, temmuz ve eylül aylarında, kültürlerde belirlenen ortalama C-fikosiyenin miktarları (326.75 ± 0.016 , 329.91 ± 0.029 ve 332.71 ± 0.021 $\mu\text{g/ml}$) arasında fark olmadığı saptanmıştır ($p > 0.05$). Üç mevsimde büyüme dönemlerinde günlük ölçülen sıcaklık değerlerinden elde edilen ortalamalar karşılaştırılmış ve farklı olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Temmuz ayında ortalama havuz sıcaklığının 34.52 ± 0.60 °C ile en yüksek olduğu belirlenirken, eylül ve nisan aylarının sıcaklıklarının, sırasıyla 30.03 ± 0.43 °C ve 24.87 ± 0.74 °C ile daha düşük oldukları belirlenmiştir. Kontrollü koşullarda yürütülen bir çalışmada *Spirulina platensis* kesikli kültürü 30 °C de tutulmuş ve $80\text{-}160$ $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de sürekli aydınlanma sağlanmıştır. Çalışmada fotoototrofik kesikli kültürde maksimum fikosiyenin üretimi 280 mg L^{-1} olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada maksimum biyomas yoğunluğu 2.0 g L^{-1} olarak belirlenmiştir (Chen ve Zhang, 1997). Bu tez çalışmasında, dışarı kültüründe nisan, temmuz ve eylül aylarında belirlenen fikosiyenin miktarları sırasıyla 326.75 ± 0.016 , 329.91 ± 0.029 ve 332.71 ± 0.021 mg L^{-1} olarak saptanırken maksimum kuru madde değerleri 1.351 ± 0.11 , 1.036 ± 0.06 ve 1.239 ± 0.06 g L^{-1} olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar karşılaştırıldığında, kuru madde değerleri daha az, fikosiyenin içeriğinin ise daha yüksek olduğu görülmektedir. Her iki çalışmada da, fikosiyenin içeriğinin kültürdeki büyüme eğrisinden ve kültürün yoğunlaşmasından bağımsız olarak sabit bir düzeyde kaldığı gözlenmiştir. Yapılan bir başka çalışmada oldukça düşük (< 15 °C) ve yüksek sıcaklıklarda (> 47 °C) ışık yoğunluğu ne olursa olsun fikobiliprotein içeriğinin düştüğünü bildirilmiştir (Chaneva ve ark., 2007)

Aydınlanma şiddetlerinin mevsimlere göre düzeylerine bakıldığında, temmuz ayındaki aydınlanma şiddetinin (1195.08 ± 92.04 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), nisan ve eylül aylarındaki denemelerde belirlenen aydınlık şiddeti değerlerinden (684.40 ± 103.89 ve 822.46 ± 57.48 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) yüksek olduğu görülmektedir. Farklı mevsimlerde, nisan

,temmuz ve eylül aylarına ait kültürlerde aşılamaadan itibaren klorofil *a* içeriklerinde, filament yoğunluğundaki artışa bağlı olarak artış olduğu gözlenirken, fikosiyanın içeriğinin kültürdeki büyüme ile paralel bir artış göstermediği belirlenmiştir. Bununla birlikte temmuz ayında denemenin 4. gününden sonra aydınlanma şiddetinde bir artış gözlenirken fikosiyanın içeriğinde azalma gözlenmektedir. Diğer iki mevsimde aydınlanma şiddetine bağlı olarak fikosiyanın miktarında belirgin bir değişim gözlenmemektedir. Bu durum temmuz ayındaki ortalama aydınlanma şiddeti ortalamasının diğer iki mevsimden farklı ve yüksek olması ile açıklanabilir. Yapılan çalışmalara göre aydınlanmanın azaldığı durumda yaygın olarak klorofil *a* ve diğer ışığı hasat eden pigmentlerde artış olmaktadır. Kawamura ve ark., Murakami ve Fujita, Hihara ve ark., Sonoike ve ark.'nın bildirdiğine göre fotosistem I (PSI) ve fotosistem II (PSII) olmak üzere iki reaksiyon aşaması içerisinde tanımlanan fotosentez olayında siyanobakterilerde PSI için alıcı sistem PSII den tümüyle farklıdır. PSI e tümüyle hizmet veren ve ışık hasatı yapan alıcı, bütünüyle klorofil *a* dan oluşurken PSII ye hizmet veren, esas olarak fikobilizomlardır. Fikobilizomlar tarafından uyarılan PSII, klorofil *a* tarafından uyarılan PSI ile karşılaştırıldığında daha büyük bir optik absorpsiyon kesitine sahiptir. Yüksek aydınlanmada büyüyen siyanobakteri hücreleri düşük PSI/PSII oranına sahiptir ve düşük ışık altında büyüyen hücrelerle karşılaştırıldığında daha düşük fikobilizom içeriğine sahiptir. Fikobilizom miktarı yüksek aydınlanma koşulları altında tercihan azalmaktadır (Vonshak ve Torzillo, 2004). Bu çalışmada temmuz ayında aydınlanmanın arttığı günlerde klorofil *a* içeriğine göre fikosiyanın belirgin bir azalma göstermesinin sebebi bu şekilde açıklanabilmektedir.

Bu değerlendirmelere göre aydınlanma şiddeti temmuz ayında diğer mevsimlere göre daha yüksek olmasına rağmen ortalama fikosiyanın içeriğinin, aydınlanma şiddetinin daha düşük olduğu nisan ve eylül aylarından farklı olmadığı görülmektedir ($p>0.05$). Bu da temmuz ayındaki aydınlanma şiddetinin fikosiyanın üretimi için gerekli optimum değerleri aştığını göstermektedir.

Her üç mevsimde kültürlerde büyüme dönemi sonunda optik yoğunluk değerleri benzer bulunmuştur. Büyüme dönemleri sonunda optik yoğunlukların benzer bulunması benzer filament yoğunluğuna ulaşıldığını göstermektedir. Bununla

birlikte klorofil *a* düzeylerine bakıldığında, klorofil *a* içeriğinin nisan ayında kültürde yüksek olduğu belirlense de farklı sıcaklık ve aydınlanma şiddeti değerlerinin *S. platensis* kültürlerinde büyümeyi etkileyecek düzeyde olmadığı görülmektedir.

Nisan, temmuz ve eylül aylarında kültürlerde büyüme sonunda saptanan kuru madde miktarları farklı bulunmuştur ve biyomasta belirlenen protein içerikleri ise benzer bulunmuştur. *S. platensis* için bilinen optimum kültür sıcaklığı 35-37 °C'dir (Vonshak ve Torzillo, 2004). Temmuz ayında gerçekleştirilen kültür çalışmasında ortalama sıcaklık 34.52±0.60 °C olarak belirlenmiştir. Kültür için optimum sıcaklık aralığına, özellikle alt sıcaklık değerine yakın olması sebebiyle temmuz ayında hücrelerin protein içeriğinin yüksek sıcaklıktan olumsuz etkilenmediği görülmektedir. Bu görüşü destekler şekilde Tomaselli ve ark. (1988) yürüttükleri çalışmada 42 °C sıcaklıktaki üretimlerde 35 °C'dekilere oranla protein oranında %22 düşüş olduğunu belirtmişlerdir. Kuru ve Cirik (2003) yürüttükleri bir çalışmada, laboratuvar koşullarında *S. platensis* te 2000 lux. ışık şiddetinin ve 28°C'den 45°C'ye kadar olan sıcaklıkların büyüme ve metabolizmaya etkisini araştırmışlardır. Çalışmada, su sıcaklığı 43°C olduğunda, protein içeriğinde %20 gibi önemli bir azalma gerçekleştiğini *S. platensis*'in yoğun üretiminde 35°C'deki sıcaklık değerlerinin biyokimyasal yapı ve büyüme için en uygun olduğunu saptamışlardır. Yapılan bir başka çalışmada sera içinde bulunan farklı kültür düzeneklerinde üretilen *Spirulina*'nın büyüme özellikleri karşılaştırılmıştır. Denemede, şeffaf bidonlar, polietilen torbalar ve ark tipi havuzlar olmak üzere üç tip kültür düzeneği kullanılmıştır. Kültür sıcaklığının daha yüksek olması nedeniyle, bidon kültürlerinde daha yüksek hücre yoğunluğuna ulaşılmıştır. Deneme sonunda ölçülen protein miktarları bidon, torba ve havuz kültürleri için sırasıyla %33.4, %54.5 ve %58.3 olarak belirlenmiştir. Bidon kültürlerindeki protein miktarının diğerlerine göre çok daha düşük oranda bulunmasının nedeni, büyümenin daha hızlı olması ve kültürün durgunluk safhasında fazla kalması nedeniyle ortamdaki azotun tüketilmesi olduğu bildirilmiştir (Göksan ve ark.,2007).

Çalışmada çözünmüş O₂ değerlerine bakıldığında en yüksek ortalama değerin (12.36±0.44 mg L⁻¹) nisan ayında belirlendiği görülmektedir. Krause, Cornic, Wu ve arkadaşlarının bildirdiğine göre oksijenin, fotorespirasyon yoluyla fazla enerjinin

dağıtılması sırasında fotosentetik aparatları koruyabildiği fakat Asada ve Takahashi'nin bildirdiğine göre daha sonra oluşan reaksiyonda üretilen zararlı oksijen radikallerinin fotosentetik yapılar üzerinde potansiyel tahrip edici etkisi olabileceği bildirilmektedir (Richmond, 2004). Oksijenin engelleyici etkisi ilk olarak Torzillo ve ark. tarafından *Spirulina maxima* büyümesi üzerinde gösterilmiştir. Benzer sonuçları Marquez ve ark. rapor etmişlerdir ve Vonshak ve ark. yürüttükleri çalışmalarıyla 36 mg L⁻¹ düzeyindeki oksijenin *Spirulina* kültürlerinde fotosentez ve büyümeyi engellediğini saptamışlardır. Bu tez çalışmasındaki denemelerde oksijen değerinin kültürde büyümeyi engelleyici düzeyde olmadığı düşünülmektedir.

Arthrospira spp. zorunlu alkalofil bir canlıdır. En iyi büyüme oranı pH 9.5-9.8 de elde edilebilmektedir. Bu çalışmada nisan, temmuz ve eylül aylarında oluşturulan kültürlerde ortalama pH değerleri farklı bulunmuş ve sırasıyla 9.55±0.040, 9.88±0.044 ve 9.70±0.049 olarak kaydedilmiştir. Bu pH değerlerine bakıldığında *Spirulina* için gereken pH 9-11 optimum sınırlarına çok yakın oldukları görülmektedir (Richmond, 2004).

Ticari öneme sahip mavi pigment fikosiyanin içeriği ile bilinen *Spirulina platensis* kültürlerinde mevsime bağlı farklı sıcaklık ve aydınlanma şiddeti değerlerinin bu değerli pigmentin miktarı üzerindeki etkisini belirlemek üzere Çukurova bölgesinde gerçekleştirilen bu çalışmada, sıcaklık ve ışık değişiminin optik yoğunluğun, fikosiyanin içeriği ve protein miktarları bakımından farklılık yaratmadığı sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çukurova iklim koşullarında ilkbahar, yaz ve sonbahar mevsimlerinde, sıcaklık ve aydınlık şiddeti gibi çevre koşullarının *Spirulina platensis*'deki C-fikosiyanin miktarına etkisini belirlemek üzere yürütülen bu çalışmada büyüme sonunda saptanan protein içerikleri ve C-fikosiyanin miktarları benzer bulunmuştur. Her üç dönemde de sıcaklığın ve aydınlanma şiddetinin *S. platensis* büyümesi için optimum değerlere yakın olması, C-fikosiyanin miktarının mevsimsel değişimden etkilenmemesi, ılıman iklime sahip Çukurova bölgesinin *Spirulina* üretimi için uygun olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- ABD EL-BAKY, H.H., 2003. Over Production of Phycocyanin Pigment in Blue Green Alga *Spirulina* sp. And It's Inhibitory Effect on Growth of Ehrlich Ascites Carcinoma Cells. J.Med. Sci., 3(4) :314-324 p.
- ANDERSON, D.W., TANG, C.S. and ROSS, E., 1991. The Xanthophylls of *Spirulina* and Their Effect. Poultry Sci., 70:115 p.
- AOAC, 1998. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15 th. Edition, (Ed) Williams, S., Arlington, Virginia.
- BHATTACHARYA, S. and SHIVAPRAKASH, M.K., 2005. Evaluation of Three *Spirulina* Species Grown Under Similar Conditions for Their Growth and Biochemicals. J. Sci. Food Agric, 85:333-336 p.
- BOUSSIBA, S. and RICHMOND, A., 1980. C-Phycocyanin as a Storage Protein in the blue-green Alga *Spirulina platensis*, Arch. Microbial., 125: 145 p.
- BOUSSIBA, S. and RICHMOND, A., 1979. Isolation and Characterization of Phycocyanin From the Blue-Green Alga *Spirulina platensis*. Arch. Microbiol., 120: 155-159.
- CHANEVA, G., FURNADZHIEVA, S., MINKOVA, K. and LUKAVSKY, J., 2007. Effect of Light and Temperature on the Cyanobacterium *Arthonema africanum* a Propective Phycobiliprotein Producing Strain. Springer Science Business Media, 19:537-544 p.
- CHEN, F., ZHANG, Y., 1997. High Cell Density Mixotrophic Culture of *Spirulina platensis* on Glucose for Phycocyanin Production Using a Fed-Batch System. Elsevier Science Inc. Enzyme and Microbial Technology, 20:221-224.
- CIFERRI, O., 1983. *Spirulina*, The Edible Microorgogonism, Microbiol. Rev., 47:551 p.
- COHEN, Z., 1997. The Chemicals of *Spirulina*, 175-204, *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnology, Vonshak, A.(Ed.), Taylor and Francis, London, 226 p.

- COLLA, L.M., REINEHR, C.O., REICHERT, C. and COSTA, J.A.V., 2007. Production of Biomass and Nutraceutical Compounds by *Spirulina platensis* Under Different Temperature and Nitrogen Regimes. Science Direct Bioresource Technology 1489-1493 p.
- CONK DALAY, M.,1997. İzole Edilmiş *Spirulina sp.*'in Kültür Ortamlarında Yetiştirilmesi Ve Besin Kalitesi Değişimleri Üzerine Bir Araştırma. Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir/TÜRKİYE.
- DAINIPPON INK and CHEMICALS INC., 1980. Production of Highly Purified Alcoholophilic Phycocyanin, Japanese Patent 80-77:890 p.
- ESTRADA, J.P.E., BESCOS,P.B. and FRESNO,A.M.V., 2001. Antioxidant Activity of Different Fractions of *Spirulina platensis* Protean Extract. Il Farmaco, 56:497-500 p.
- GÖKSAN, T., ZEKERİAYAOĞLU, A. and AK, İLKNUR., 2007. The Growth of *Spirulina platensis* in different Culture Systems Under Greenhouse Condition, Tübitak, 47:58 p.
- KORU, E., CİRİK, S., 2003. *Spirulina platensis* (Cyanophyceae) Mikroalg'inin Büyümesine Ve Bazı Biyokimyasal Özelliklerine Sıcaklığın Etkisi. E.U.Journal of Fisheries Aquatic Sciences, (3-4):419-422 p.
- MIKI, W., YAMAGUCHI, S. and KONOSU, S., 1986. Caratenoid Composition of *Spirulina maxima*, Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 7:1225 p..
- PAOLETTI,C.,VINCENZINI, M.,BOCI, F. and MATERASSI, R., 1980. Composizione Biochimica Generale delle Biomasse di *Spirulina platensis* e *S. maxima* in Materassi, R.(Ed.) Prospettive della Coltura di *Spirulina* in Italia. Rome: Consiglio Nazionale delle Ricerche, 111-125 p.
- POST, F.A., WIT, R. and MUR, L., 1985. Interactions Between Temperature and Light Intensity on Growth and Photosynthesis of the Cyanobacterium *Oscillatoria agardhi*.
- RAFIGUL, I.M., JALAL, K.C.A. and ALAM, M.Z., 2005. Environmental Factors for Optimasition of *Spirulina* Biomass in Laboratory Culture, Biotechnology, 4(1):19-22 p.

- RICHMOND, A., 1986. Outdoor Mass Cultures of Microalgae. (A. Richmond Editör). Handbook of Microalgal Mass Cultures of Microalgae. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 285-329.
- RICHMOND, A., 2004. Biological Principles of Mass Cultivation. (A. Richmon editör). Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, Blackwell Science Ltd. Oxford/UK, 125-177.
- SARADA, R., PILLAI, M.G., RAVISHANKAR, G.A., 1998. Phycocyanin from *Spirulina sp*: Influence of Processing of Biomass on Phycocyanin Yield, Analysis of Efficiency of Extraction Methods and Stability Studies on Phycocyanin. Process Biochemistry, 34:795-801 p.
- SLOTH, J.K., WIEBE, M.G. and ERIKSEN, N.T., 2006. Accumulation of Phycocyanin in Heterotrophic and Mixotrophic Cultures of the Acidophilic Red Algae *Galdieria sulphuraria*. Enzyme and Microbial Technology, 38: 168-175 p.
- TOMASELLI, L., GIOVANNETTI, L., SACCHI, A., BOCCI, F., 1988. Effect of Temperature on Growth and Biochemical Composition in *Spirulina platensis* Strain M2. (T. Stadler, J. Million, M.C. Verdu, Y. Karamanos, H. Morvan and D. Christian Editör). Algal Biotechnology. Elsevier, 521; 305-314.
- TORZILLO., 1991. Temperature as an Important. Factor Affecting Productivity and Night Biomass Loss in *Spirulina platensis*. Grown Outdoors in Tubular Photobioreactors, Bioresource Technology. Elsevier Sciences Publishers Ltd., England.
- VOLLENWEIDER, A.R., 1974. A Manual on Methods for Measuring Primary Production in Aquatic Environments. Burges and Son Lmt., Oxford, 72.
- VONSHAK, A., 1997. Morphology, Ultrastructure and Taxonomy of *Arthrospira (Spirulina)*: The Basic Concept. (L. Tomoselli editör). *Spirulina platensis* (*Arthrospira*) Physiology, Cell-Biology and Biotechnology. Taylor&Francis Ltd. Great Britain, pp.1-15.
- VONSHAK, A., TORZILLO, G., 2004. Environmental Stress Physiology. (A. Richmond Editör). Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Science Ltd. Oxford/UK, 57-82.

ZHOU, Z.P., LIU, L.N., CHEN, X.L., WANG, J.X., CHEN, M., ZHANG, Y.Z. and ZHOU, B.C., 2005. Factors That Effect Antioxidant Activity of C-Phycocyanins from *Spirulina platensis*. Journal of Food Biochemistry, 29:313-322 p.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Antalya’da doğdum. İlkokul, orta ve lise öğrenimimi Antalya’da tamamladım. 2000 yılında Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesinde lisans eğitimime başladım ve 2004 yılında Su Ürünleri Mühendisi olarak mezun oldum. 2005 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimime başladım.