

T.C.  
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

FARKLI KORUYUCULARLA MUHAFAZA EDİLMİŞ  
*Pseudanabaena* sp. VE *Arthrospira maxima* 'DAN  
ÜRETİLEN C-FİKOSİYANİNİN STABİLİTESİ  
ÜZERİNE SICAKLIĞIN ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FATİH İÇTEN

TEMMUZ 2021

MUĞLA

**T.C.**  
**MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI KORUYUCULARLA MUHAFAZA EDİLMİŞ**  
***Pseudanabaena* sp. VE *Arthrospira maxima* 'DAN**  
**ÜRETİLEN C-FİKOSİYANİNİN STABİLİTESİ**  
**ÜZERİNE SICAKLIĞIN ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**FATİH İÇTEN**

**TEMMUZ 2021**

**MUĞLA**

# MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

## Fen Bilimleri Enstitüsü

### TEZ ONAYI

FATİH İÇTEN tarafından hazırlanan “FARKLI KORUYUCULARLA MUHAFAZA EDİLMİŞ *Pseudanabaena* sp. VE *Arthrospira maxima*’DAN ÜRETİLEN C-FİKOSİYANİNİN STABİLİTESİ ÜZERİNE SICAKLIĞIN ETKİSİ” başlıklı tezinin, 01/07/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı’nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği ile kabul edilmiştir.

#### TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Şengül BİLGİN (Jüri Başkanı)

İmza:

Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Ana Bilim Dalı  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Isparta

Doç. Dr. Ali GÜNLÜ (Danışman)

İmza:

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

Doç. Dr. Yunus ALPARSLAN (Üye)

İmza:

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

#### ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Celal ATEŞ

İmza:

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

Doç. Dr. Ali GÜNLÜ

İmza:

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

Savunma Tarihi: 01/07/2021

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.

Fatih İÇTEN

01/07/2021



## ÖZET

### FARKLI KORUYUCULARLA MUHAFAZA EDİLMİŞ *Pseudanabaena* sp. VE *Arthrospira maxima*’DAN ÜRETİLEN C-FİKOSİYANİNİN STABİLİTESİ ÜZERİNE SICAKLIĞIN ETKİSİ

Fatih İÇTEN

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr. Ali GÜNLÜ

Temmuz 2021, 70 Sayfa

Bu çalışma ile *Pseudanabaena* sp. ve *Arthrospira maxima* türlerinden saf su ve fosfat tamponu ile özütlenen fikosiyanın (C-PC) koruyucular ile sıcaklık dayanımını amaçlanmıştır. Ayrıca, +4 °C ve +25 °C’de liyofilize fikosiyanın (C-PC)’in stabilitesi üzerine seçilmiş yenilebilir koruyucular olan sitrik asit, sükroz, kalsiyum klorür ve kalsiyum klorür+sükrozun etkileri sulu çözeltilerde çalışılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre en yüksek C-PC içeriği 0,36 mg/ml ile fosfat tamponunda özütlenen *Pseudanabaena* sp. türünde tespit edilmiştir. Örneklerin C-PC saflığını (620/280) artırmak için 10 ve 50 kDa kesme kapasitesi olan ultra santrifüj tüpü ile santrifüjlenmiş ve en yüksek saflık derecesi 1,60 ile saf suda *Pseudanabaena* sp. türünden özütlenen grubunda belirlenmiştir. Her iki mikroalg türünde de C-PC’nin farklı sıcaklıklarda depolamaya bağlı koruyucularla muamelesi sonucu en iyi koruyuculuk kalsiyum klorür+sükroz kombinasyonu ile sükroz grubunda tespit edilmiştir. Ayrıca C-PC’nin dayanımı üzerine depolama sıcaklığının artışının olumsuz etkisi olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, *Pseudanabaena* sp. ve *Arthrospira maxima*’nın önemli C-PC kaynağı olduğu, saf su ve fosfat tamponunda özütlenebileceği, düşük sıcaklıkta (+4 °C) kalsiyum klorür ve sükroz varlığında stabilitesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Pseudanabaena* sp., *Arthrospira maxima*, C- Fikosiyonin, Sıcaklık Dayanımı, Koruyucular,

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF TEMPERATURE ON THE STABILITY OF THE C-PHYCOCYANIN, WHICH IS PRODUCED FROM *Pseudanabaena* sp. AND *Arthrospira maxima* PRESERVED WITH DIFFERENT PRESERVATIVES

Fatih İÇTEN

Master of Science (M.Sc.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Fisheries

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ali GÜNLÜ

July 2021, 70 pages

The aim of this study was to extract phycocyanin (C-PC) with distilled water and phosphate buffer from *Pseudanabaena* sp. and *Arthrospira maxima* species. Also, the effect of selected edible preservatives, citric acid, sucrose, calcium chloride, and chloride+sucrose on the stability of lyophilized C-phycocyanin (C-PC) at 4 °C and 25 °C was studied in aqueous solution. According to the results of the study, the highest C-PC content was detected in *Pseudanabaena* sp, which is extracted in the phosphate buffer with 0,36 mg/ml. Centrifuged with the ultracentrifugal tube with a cutting capacity of 10 and 50 kDa to increase C-PC purity (620/280) of samples and the highest degree of purity was determined in the group extracted in distilled water of the *Pseudanabaena* sp species with 1,60. In both types of microalgae, the best protection was detected in the Sucrose group with a combination of calcium chloride+sucrose as a result of the treatment of C-PC with storage-related preservatives at different temperatures. In addition, it was determined that the increase in storage temperature on the strength of the C-PC had a negative effect. As a result, it has been determined that *Pseudanabaena* sp and *Arthrospira maxima* are important sources of C-PC, can be extracted in distilled water and, phosphate buffer, have high stability at low temperatures (+4 °C) and in the presence of calcium chloride and sucrose.

**Keywords:** *Pseudanabaena* sp., *Arthrospira maxima*, C-Phycocyanin, Temperature Resistance, Preservatives

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda desteğini benden esirgemeyen, çalışmalarımnda bilgi ve deneyimlerini titizlikle bana aktaran sayın danışman hocam Doç. Dr. Ali GÜNLÜ'ye, laboratuvar çalışmalarımnda tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam Doç. Dr. Yunus ALPARSLAN'a, ve tüm emeği geçenlere minnetlerimi sunuyorum.

Hanna Spirulina (*Arthrospira Maxima*) örneğini çalışmamızda bize tedarik edilmesinde kolaylık sağlayan “İskoç Organik Gübre Tarım Hayvancılık Enerji Üretim Danışmanlık Sanayi ve Ticaret Limited Şirketi” işletme sahibi İskender UYGUNBAŞ'a, *Pseudeanaena* sp. örneğini çalışmamızda bize tedarik edilmesinde hiçbir yardımını esirgemeyen “Başoğlan Çınar Tur. Tar. İnş. Müh. İth. İhr. Ltd. Şti.-Umut Termal Otel” işletme sahibi Kadir BAŞOĞLAN'a teşekkür ediyorum.

Tezin hazırlanması sırasında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen başta annem ve babam olmak üzere askerde vatani görevini yerine getiren kardeşimede teşekkürü bir borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	v
ABSTRACT .....	vi
ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER .....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
SEMBOL VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
<b>1.GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETİ .....</b>	<b>4</b>
2.1. Cyanophyceae (Mavi-Yeşil Alg-Cyanophyta-Cyanobacteria).....	4
2.1.1. <i>Arthrospira maxima</i> (Setchell&N.L.Gardner, 1917).....	6
2.1.2. <i>Pseudanabaena</i> sp.'nin Genel Özellikleri .....	8
2.2. Mavi-yeşil Alglerin Pigment Proteinleri .....	10
2.2.1. C-Fikosiyanın .....	11
2.2.2. Fikoeritrin .....	13
2.2.3. Allofikosiyanın .....	14
2.3. Konuyla İlgili Yapılan Çalışmalar .....	15
<b>3. MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>22</b>
3.1. Materyal.....	22
3.1.1. Çalışmamızda kullanılan türler .....	22
3.1.2. Stabilite testlerinde kullanılan tamponlar ve hazırlanışı.....	22
3.1.2.1. Fosfat tamponu .....	22
3.1.2.2. Sitrik asit tamponu .....	23
3.1.2.3. Sükroz (Sakkaroz) tamponu.....	23
3.1.2.4. Kalsiyum klorid tamponu .....	23
3.1.2.5. Kalsiyum Klorür ve Sükroz tamponu .....	24
3.2. Metot .....	24
3.2.1. Özütleme öncesi örneklerin nem tayini .....	24
3.2.2. C-Fikosiyanın özütlenmesi .....	25

3.2.3. C-Fikosiyenin içeriğinin hesaplanması .....	29
3.2.4. Ultra santrifüj işlemi .....	31
3.3. Çeşitli koruyucuların PC'nin sıcaklık dayanımı üzerine etkisinin belirlenmesi	33
3.4. İstatistikî analizler .....	36
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>37</b>
4.1. Örneklerin Nem İçerik Analiz Sonuçları.....	37
4.2. Örneklerin Fikosiyenin, Verim ve Safılık Analiz Sonuçları .....	37
4.3. C-PC nin Farklı Koruyucularla Muhafazasındaki Renk Değişimleri .....	38
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR .....</b>	<b>51</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>58</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>70</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Örneklerin nem içerikleri (% Kuru Ağırlık) .....	37
Çizelge 4.2. İki farklı tampon kullanılarak özütlenen örneklerin C-Fikosiyanin, verim ve saflık değer sonuçları .....	38
Çizelge 4.3. Farklı koruyucuların +4 °C’de <i>A. maxima</i> ’nın C-PC içeriği üzerine etkisi .....	39
Çizelge 4.4. Farklı koruyucuların +4 °C’de <i>Pseudanabaena</i> sp.’nin C-PC içeriği üzerine etkisi .....	42
Çizelge 4.5. Farklı koruyucuların +25 °C’de <i>A. maxima</i> C-PC içeriği üzerine etkisi .....	45
Çizelge 4.6. Farklı koruyucuların +25 °C’de <i>Pseudanabaena</i> sp. C-PC içeriği üzerine etkisi .....	48

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Fikobiliproteinlerin yapısal organizasyonu PE: Fikoeritrin, PC: Fikosiyanin, APC: Allofikosiyanin, PSI: Fotosistem I, PSII: Fotosistem II (Hsieh-Lo vd., 2019) .....	10
Şekil 2.2. Fikosiyaninin trimer ve hegzamer yapıları .....	12
Şekil 2.3. Fikosiyanin zincir görünümü .....	12
Şekil 2.4. Fikosiyanin genel yapısı .....	13
Şekil 2.5. Fikoeritrinin zincir görünümü.....	13
Şekil 2.6. Fikoeritrinin genel yapısı .....	14
Şekil 2.7. Allofikosiyanin trimer görünümü .....	15
Şekil 2.8. Allofikosiyaninin zincir görünümü.....	15
Şekil 3.1. Fosfat tampon çözeltinin hazırlanışı (Orijinal) .....	22
Şekil 3.2. Sitrik asit tampon çözelti hazırlama (Orjinal).....	23
Şekil 3.3. Kalsiyum klorür tampon çözeltisinin hazırlanışı (Orjinal) .....	24
Şekil 3.4. Örneklerin nem tayini (Orijinal) .....	25
Şekil 3.5. Örneklerin hassas terazide tartımı (Orijinal).....	26
Şekil 3.6. Örneklerin vortekslenmesi (Orijinal).....	26
Şekil 3.7. Örneklerin ultrasonik banyo kullanılarak çözündürülmesi (Orijinal).....	27
Şekil 3.8. Örneklerin karıştırıcı kullanılarak çözündürülmesi (Orijinal) .....	27
Şekil 3.9. Örneklerin yüksek hızlı soğutmalı santrifüj cihazında santrifüj işlemi (Orijinal) .....	28
Şekil 3.10. Örneklerin filtrasyon (25mm 0.45 µm) işlemi (Orijinal).....	28
Şekil 3.11. Örneklerin filtrasyon (25mm 0.45 µm) işlemi (Orijinal).....	29
Şekil 3.12. Örneklerin UV-VIS spektrofotometrede absorbans ölçümü (Orijinal) ...	30
Şekil 3.13. Örneklerin UV-VIS spektrofotometrede absorbans ölçümü (Orijinal) ...	31
Şekil 3.14. Örneklerin ultra santrifüj tüplerine eklenme işlemi (Orijinal).....	32
Şekil 3.15. Ultra santrifüj tüpleriyle örneklerin yüksek hızlı soğutmalı santrifüjde santrifüj işlemi (Orijinal) .....	32

Şekil 3.16. Santrifüj sonrası yüksek saflıktaki C-fikosiyanin içeren örnek (süpernatant) (Orijinal) .....	33
Şekil 3.17. Ultra soğutmalı santrifüj işlemi sonrası örnekte oluşan çökelti (Orijinal) .....	34
Şekil 3.18. Örneklerin ultra soğutmalı santrifüj sonrası oluşan üst faz (Orijinal) .....	34
Şekil 3.19. Liyofilize edilmiş C-PC örnekleri (Orijinal).....	35
Şekil 4.1. Farklı koruyucuların +4 °C’de <i>A. maxima</i> ’nın C-PC içeriği üzerine etkisi.....	39
Şekil 4.2. <i>A. maxima</i> ’dan özütlenen C-PC’nin +4 °C’de depolamaya bağlı değişimi (Kontrol) .....	40
Şekil 4.3. <i>A. maxima</i> ’dan özütlenen C-PC’nin +4 °C’de depolamaya bağlı değişimi (Fosfat tamponu).....	40
Şekil 4.4. <i>A. maxima</i> ’dan özütlenen C-PC’nin +4 °C’de depolamaya bağlı değişimi (Sitrik Asit) .....	40
Şekil 4.5. <i>A. maxima</i> ’dan özütlenen C-PC’nin +4 °C’de depolamaya bağlı değişimi (CaCl <sub>2</sub> ) .....	41
Şekil 4.6. <i>A. maxima</i> ’dan özütlenen C-PC’nin +4 °C’de depolamaya bağlı değişimi (Sükroz) .....	41
Şekil 4.7. <i>A. maxima</i> ’dan özütlenen C-PC’nin +4 °C’de depolamaya bağlı değişimi (Sükroz+CaCl <sub>2</sub> ).....	41
Şekil 4.8. Farklı koruyucuların +4 °C’de <i>Pseudanabaena sp.</i> ’nin C-PC içeriği üzerine etkisi.....	42
Şekil 4.9. <i>Pseudanabaena sp.</i> ’dan özütlenen C-PC’nin +4 °C’de depolamaya bağlı değişimi (Kontrol) .....	43
Şekil 4.10. <i>Pseudanabaena sp.</i> ’dan özütlenen C-PC’nin +4 °C’de depolamaya bağlı değişimi (Fosfat tamponu).....	43
Şekil 4.11. <i>Pseudanabaena sp.</i> ’dan özütlenen C-PC’nin +4 °C’de depolamaya bağlı değişimi (Sitrik asit) .....	43
Şekil 4.12. <i>Pseudanabaena sp.</i> ’dan özütlenen C-PC’nin +4 °C’de depolamaya bağlı değişimi (CaCl <sub>2</sub> ) .....	44
Şekil 4.13. <i>Pseudanabaena sp.</i> ’dan özütlenen C-PC’nin +4 °C’de depolamaya bağlı değişimi (Sükroz) .....	44
Şekil 4.14. <i>Pseudanabaena sp.</i> ’dan özütlenen C-PC’nin +4 °C’de depolamaya bağlı değişimi (Sükroz+CaCl <sub>2</sub> ).....	44
Şekil 4.15. Farklı koruyucuların +25 °C’de <i>A. maxima</i> C-PC içeriği üzerine etkisi .	45
Şekil 4.16. <i>A. maxima</i> ’dan özütlenen C-PC’nin +25 °C’de depolamaya bağlı değişimi (Kontrol) .....	46

Şekil 4.17. <i>A. maxima</i> 'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Fosfat Tamponu) .....	46
Şekil 4.18. <i>A. maxima</i> 'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Sitrik asit) .....	46
Şekil 4.19. <i>A. maxima</i> 'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (CaCl <sub>2</sub> ) .....	47
Şekil 4.20. <i>A. maxima</i> 'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Sükroz) .....	47
Şekil 4.21. <i>A. maxima</i> 'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Sükroz+CaCl <sub>2</sub> ).....	47
Şekil 4.22. Farklı koruyucuların +25 °C'de <i>Pseudanabaena</i> sp. C-PC içeriği üzerine etkisi.....	48
Şekil 4.23. <i>Pseudanabaena</i> sp.'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Kontrol) .....	49
Şekil 4.24. <i>Pseudanabaena</i> sp.'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Fosfat Tamponu) .....	49
Şekil 4.25. <i>Pseudanabaena</i> sp.'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Sitrik Asit) .....	49
Şekil 4.26. <i>Pseudanabaena</i> sp.'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (CaCl <sub>2</sub> ) .....	50
Şekil 4.27. <i>Pseudanabaena</i> sp.'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Sükroz) .....	50
Şekil 4.28. <i>Pseudanabaena</i> sp.'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (CaCl <sub>2</sub> +Sükroz).....	50

## SEMBOL VE KISALTMALAR DİZİNİ

SANTEZ	Sanayi Tezleri
UV-ViS	Ultraviyole–Görünür Spektroskopi
C-PC	Fikosiyanin
PC	Fikosiyanin Konsantrasyonu
$\beta$	Beta
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
GLA	Gama Linoleik Asit
RNA	Ribo Nükleik Asit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asid
Nm	Nano Metre
$\lambda$	Nano
kda	Kilo Dalton
$\alpha$	Alfa
°C	Derece Santigrat
mg	Miligram
kg	Kilogram
g	Gram
L	Litre
®	Register
mmol	Milimol
pH	Hidrojen'in Gücü
$\mu$	Mikro
%	Yüzde
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
SPSS	Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi
ANOVA	Tek Yönlü Varyans Analizi (Varyans Analizi)

p Olasılık  
MSKÜ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi  
ε Epsilon



# 1.GİRİŞ

Doğanın birçok alanında yaygın olarak bulunan renk pigment üreten mikro alglerden günümüzde fikosiyanın, ksantofil ve fikoeitrin gibi renk pigmentlerinin üretimi yapılmaktadır. Bu mikrobiyal canlılar birçok metabolitleri ihtiva ettiğinden dolayı ticari olarak büyük değere sahiptir. Bu ihtiva ettiği metabolitler ise protein, karbonhidrat, yağ, esansiyel aminoasit, pigment maddeleri ve biyoaktif moleküller maddelerdir. Geçmişten günümüze uzun yıllardır mikro algler gıda olarak tüketilmekte olup insan organizması üzerinde olumlu etkilerinin olduğu bilinmekte ve bu algler yaygın şekilde kullanılmaktadır (Çelikel vd., 2006).

Günümüz yapay (sentetik) mavi renk boyaların içecek ve şekerleme sanayinde kullanımı düzenlemelerle kısıtlanmakta ve bu yapay renk pigmentinin yerine doğal mavi renkli (fikosiyanın) renk pigmentlerinin kullanımı artmaktadır (Herrera vd., 1989; Henrikson, 2011). Fikosiyanın renk pigmenti başta kozmetik, gıda ve ilaç sanayilerinde olmak üzere birçok ürünlerde kullanımı yaygınlaşan doğal bir renk pigmenttir. Bu kapsamda doğada bulunan doğal ve mavi renkli bir pigment olan fikosiyanın içeren bu mavi yeşil alglerden fikosiyanın üretimi dikkat çekmektedir. Bu sebeple ticari olarak dünyada birçok firma tarafından ekonomik olarak üretimi yapılan bir boyar maddedir. “Dainippon Ink. & Chemicals Inc.” şirketi “Lina Mavisi” adıyla fikosiyanın ticari açıdan üretimini Japonya’da üretmekte olup bu fikosiyanın birim kg fiyatını 130 dolardan piyasada alıcı bulmaktadır (Akoğlu ve Çakmakçı, 2011).

Gıda endüstrisinde bu mikro alglerin en önemli özelliği ise doğal olmasından dolayı insan sağlığına faydalı ve cezbedici özelliğinin olması ile gıda ürünlerinde zamanla kullanımı artmaktadır. Bu renklendiriciler gıda endüstrisinde doğal katkı maddesi olarak kullanılması nedeniyle başta tüketiciler olmak üzere üreticiler açısından da son derece olumlu sonuçlar doğurmaktadır. Son yıllarda piyasada doğal renk maddeleri olarak gıdalarda kullanımındaki artışına paralel olarak piyasada satış olanakları gelişmiştir. Bu nedenle tüketicilerin doğal maddelere eğilim göstermekte ve bu ürünlere olan ilgi dikkat çeken bir şekilde artış göstermiştir. Dünya çapında

sentetik (yapay) renklendiricilerin zararlı yan etkilerinin ortadan kaldırılması için doğal maddelerin üretimine ve sürdürülebilir şekilde bu maddelerin geliştirilmesine yönelik araştırmalar (AR-GE) hızlı bir şekilde artmıştır (Akoğlu, 2012).

Alg; Vitamin, pigment, protein, mineral, lipit ve polisakkarit gibi farklı kimyasal ve biyolojik bileşenleri ihtiva etmesinin yanısıra bu bileşikleri üretme özelliğinede sahip oldukça önemli bir organizmadır. Gelişmiş ölkeler; birçok öncelikli konuların başında gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisinin gereksinimini karşılama nedeniyle ile yüksek katma değere sahip olan ve içeriğinde fikosiyanın (PC) ve fikoeritrin (PE) gibi pigment proteinlerini ihtiva eden mikroalgler kullanılmaktadır. Mavi yeşil alglerin yüksek yoğunlukta besinsel içeriğinin yanı sıra fikobilinproteinlerini de içerdii son yıllarda yapılan birçok araştırmalarda ortaya çıkmıştır. Bu fikobilinproteinlerinin vücut bağışıklık sistemini destekleyen antioksidant, antiviral, anti-inflamatuar, anti-kanser ve anti-diabetik etkilerinin yine aynı çalışmalarla ortaya çıktığı bildirilmiştir (Gustafson vd., 1989; Hayashi vd., 1994; Qureshi ve Ali, 1996a,b; Romay vd ., 1998; Liu vd ., 2000; Gantar vd., 2012).

Akuatik ekosistemlerdeki mikroalglerin biyolojik rolleri başta olmak üzere ekolojik rollerinin yanısıra hem insan sağlığına faydaları hemde akua kültürlerinde yetiştirilen sucul canlıların yaşamları için oldukça önemli besin maddelerini içerirler. Mikroalg türlerinin birçoğu günümüzde yüksek protein başta olmak üzere beta-karoten, doymamış yağ asiti, vitamin ve pigment ihtiva ettiklerinden dolayı sanayi amaçlı biyoteknolojik çalışmalarda kullanılmaktadırlar. 1950'li yıllardan beri bu çalışmalar özellikle *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Dunaliella*, *Spirulina* ve *Haematococcus* cinslerine ait türlerle yapılmaktadır. Akuakültür ortamında yetiştirilen süs balığı, karides, alabalık ve somon gibi su ürünlerinin pigment kaynağı olarak mikroalg kullanılmaktadır. Protein kaynaklı bu pigment maddelerinin başta renk verici özelliğinin yanı sıra, balıkların ölüm oranlarının azaltılması ve gelişimlerini çabuk tamamlamaların sağlanması nedeniyle bu maddeler büyük öneme sahiptir. Pigment içeriğinde pigment maddeleri bulunduran mikroalgler doğada geniş alanlarda bulunmakta ve bu mavi-yeşil alglerden fikosiyanın (PC), fikoeritrin (PE),  $\beta$ -karoten, astaksantin ve ksantofil gibi maddeler üretilmektedir (Duru ve Yılmaz, 2013).

Fikosiyonin, anlaşılacağı üzere birçok alanda çeşitli etkilere ve özelliğe sahip bir madde olduğu birçok araştırmada ve çalışmada ortaya konulmuştur. Bu çalışma ile öncelikle *Arthrospira maxima* ve *Pseudanabaena* sp.'den gıda katkı maddesi olarak

kullanılabilecek saflıkta doğal mavi renk pigmenti C-fikosiyanin özütlenmesi ve özütlenen C-fikosiyanine 4 °C ve 25 °C’de depolama şartlarında farklı koruyucuların ilavesi ile C-PC üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



## 2. KAYNAK ÖZETİ

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

Cyanobacteriler içeriğinde fotosentetik pigmentler bulundurması nedeniyle mavi yeşil alg olarak adlandırılırlar (Kahraman ve Küplülü, 2012). Mavi-yeşil algler yapılarında farklı kimyasal ve biyolojik bileşikleri ürettiklerinden dolayı oldukça önemlidirler (Borowitzka, 1988; Cohen, 1997). Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), gamma linoleik asit (GLA), allofikosiyanın, C-fikosiyanın ve fikoeritrin gibi pigmentler canlı kaynaklarla kıyaslandığında alglerde oldukça zengin şekilde bulunurlar (Koru ve Cirik 2003). Başta balıklar olmak üzere ve diğer sucul organizmaların en önemli besin maddesini oluşturduklarından doğadaki besin zincirinin başlangıç noktasında yer alırlar (Dalay vd., 2008).

Mavi-yeşil alglerle ilgili en önemli tartışma konusu ise bakteri sınıfında mı (Stanier vd., 1978) yoksa ökaryotik alg (Lewin, 1976) sınıfında mı olup olmadığıdır (Ishiura vd., 1998, Graham vd., 2004, Keeton vd., 2004). Mavi-yeşil algler her iki grubunda özelliklerini ihtiva eden (alg ve bakteri) ototrof prokaryot organizmalardır. Botanik bilimciler fotosentezi gerçekleştirdikleri ve atmosferik azotu bozarak diğer organizmaların kullanacağı türdeki azota çevirdikleri için mikroalg ve siyanofit olarak isimlendirmişlerdir. Mikrobiyologlar ise 16S rRNA taşıdıklarını ve moleküler biyolojilerinden dolayı ise bakteri olarak isimlendirilmişlerdir. Bu canlılar basit yapıdaki sarmal gene sahip olduklarından dolayı yapısal olarak en basit canlılardır (Kahraman ve Küplülü, 2012).

Mavi-yeşil algler anaerobik metabolizmaya sahip mikroorganizmalardır (Mur vd., 1999). Yaşamsal faaliyetlerini devam ettirmeleri için karbondioksit (CO<sub>2</sub>), su (H<sub>2</sub>O), inorganik bileşiklere ve ışığa ihtiyaç duymaktadırlar. Enerji sağlamalarının temel koşulu fotosentez yapmaktır. Ancak türlerin bazıları ise karanlık (ışıksız) ortamda hiç fotosentez yapmadan kemoheterotrof olarak yaşamlarını uzun süre devam ettirirler (Akoğlu ve Çakmakçı, 2011).

Sıcak su kaynaklarından Antartika'da kısa süreli donan su habitatlarına kadar geniş bir alanı kapsayan ortamlarda alglerin yaşamlarını sürdürdüğü görülmüştür (Hitzfeld vd., 2000). Karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve suyu (H<sub>2</sub>O) yapısında ihtiva eden pigmentler sayesinde ışık enerjisinin etkisi ile karbonhidratlara dönüştürürler. Bu şekilde akua ortamındaki çözülmüş oksijen(O<sub>2</sub>) oranının ve karbonhidrat içeren besin miktarının artmasına yardımcı olurlar (Kahraman ve Küplülü, 2012).

Mavi-yeşil algler çok hücreli veya tek hücreli koloni olmak üzere iki farklı koloni oluşturabilmektedirler. Bunun yanında ise iplikli yapıda da olabilirler. Üremeleri iki şekilde olmaktadır; bunların ilki vejetatif bölünmeyle, ikincisi ise kokospor, hormogon vb. gibi spor hücreleriyle olmaktadır. İplikli yapıların birkaçında ipliği oluşturan hücrenin arasında tek bir hücreden oluşan akinet (dayanıklı hücre) olarak bilinen yapılara rastlanılmaktadır. Tallus, uygun koşullar sağlandığında iplikli gövdeden ayrılarak yeni bir tallus meydana getirir. Heterosist adı verilen hücreler; tallusu oluşturan hücrelerin arasında akinetten daha kalın ve saydam görünümlü, havanın serbest azotunu absorbe edebilen, fotosentez yapma özelliğini kaybetmiş ve organizmanın sistematikteki yerinin belirlenmesinde etkili olmaktadır (Graham ve Wilcox, 2000).

*Cyanophyceae* olarak isimlendirilen mavi-yeşil algler plastidleri bulunmayan ve gerçek çekirdekleri zar ile çevrelenmemiş organizma grubudur. Sitoplazma içinde DNA ve pigment maddeleri çekirdek zarları bulunmadığı için gelişigüzel (dağınık) halde bulunmaktadır. Peptidoglikan yapısında hücre duvarı bulunur fakat prokaryot gruplara özgü 70S ribozom yerine 80S ribozom bulundururlar. Karotenoid yönünden zengin olmasının nedeni ise müsilajlı ve çift çeperden oluşan ince bir kın ile hücreleri çevrili olmasıdır (Cirik ve Cirik, 2004).

Dünya yaşının 4,6 milyar yıl olduğu ve günümüzden 3,7 ile 3,85 milyar yıl önce yerküredeki ilk yaşamın da meydana geldiği bilinmektedir (Graham vd., 2004). Fotosentetik (*Cyanobacteria: Cyanophyta*) mavi-yeşil algler; bu dönemin en eski organizmalarına ait bulgular 3,5 milyar yıl önce denizlerde yaşayan prokaryotik hücre yapısında ve fotosentez yapabilme özelliğine sahip ilk canlılardır. Dünyada tanınan bu organizmalar en eski oksijen(O<sub>2</sub>) üreten ve fotosentez yapan organizma grubu olarak bilinir. Bu ototrof canlılar; fotosentezin farklı formları olan klorofil a ve klorofil b ile beraber yardımcı birçok fotosentetik pigmentle beraber birincil üretimi yapmaktadır (Taş ve Taş, 2007).

Ekonomik, evrimsel ve ekolojik getirisine oldukça önem verilen canlı grubu mavi-yeşil alglerdir. Heterosist olan mavi-yeşil alglerle fotosentezin tam olarak gerçekleşmesi ve azotun tespit edilmesi gerçekleştirilmiştir. Mavi-yeşil algler atmosferde bulunan oksijenin yaklaşık en az %50'sini açığa çıkartmakta olup geri kalan oranı ise diğer algler tarafından sağlanmaktadır (Taş ve Taş, 2007).

Proteini, pigment maddeleri, çeşitli etkin maddeler, yağ asitleri, antibiyotiki, polisakariti ve daha birçok metaboliti ise mikroalglerden olan mavi-yeşil algler yapılarında doğal olarak bulundurduklarından ve bu maddeleri yapılarında yüksek miktarda içerdiklerinden dolayı sağlık için faydalıdır (Cirik vd., 2008).

### **2.1.1. *Arthrospira maxima* (Setchell&N.L.Gardner, 1917)**

Türün sistematikteki yeri:

**Classis:** Cyanophyceae

**Ordo:** Oscillatoriales

**Familiya:** Phormidiaceae

**Subfamiliya:** Phormidioideae

**Genus:** *Arthrospira*

**Tür:** *A. maxima* (Setchell&N.L.Gardner, 1917)

**Synonim:** *Spirulina maxima* (Setchell & N.L.Gardner) Geitler, 1932

[https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/829990/tab/taxo?lg=en](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/829990/tab/taxo?lg=en)

*Arthrospira* cinsi dünyanın çok farklı bölgesinde uzunca bir süredir gıda olarak kullanılmaktadır. Bu cinsin pek çok türü gıda takviyesi ve katkı maddeleri üretiminde kullanılmak üzere farklı kültür arasında en detaylı çalışılan kültür olduğu belirtildi (Nowicka-Krawczyk vd., 2019). *Arthrospira* cinsinin en belirgin morfolojik özelliklerinden biri, kolayca görülebilen çapraz duvarlara sahip çok hücreli trikomların sarmal kıvrımlarıdır. *Arthrospira* cinsi içinde 23 tür taksonomik olarak kabul edilmektedir. Deniz türlerinden üçü yüksek pH ve/veya elektrik iletkenliğine sahip sulara bulunmaktadır ve geri kalanlar ise tatlı su türleridir. Türler, Antarktika hariç tüm kıtalarda kaydedilmiştir. Daha sıcak bölgelerde, planktik türler genellikle

yoğun alg patlamaları gösterir ve geleneksel olarak yerel halk tarafından doğrudan tüketim için hasat edilir. Çoğu endüstriyel uygulamalarda, *Arthrospira*, telaffuz edilmesi ve hatırlanması daha kolay olan ve dolayısıyla pazarlama açısından daha uygun görünen “Spirulina” ortak adı altında kullanılmaktadır. Ancak gerçek *Spirulina* ile sadece uzaktan akrabadır ve büyük çabalara rağmen dünyanın hiçbir yerinde bu cinsin herhangi bir türünü üreten herhangi bir tesis tespit etmek mümkün olmamıştır. Pazarlama değerinin yanı sıra, adı tarihsel nedenlerle kullanılmaktadır (Nowicka-Krawczyk vd., 2019). *Arthrospira* cinsi, *Arthrospira platensis* ve *A. maxima* gibi bir grup fotosentetik, filamentli çok hücreli siyanobakteri (mavi-yeşil mikroalg) içerir (Nuhu, 2013; Pelizer vd., 2020). *Arthrospira* spp. kültür koşullarına bağlı olarak kuru ağırlığının %50-70 oranında protein ile zengin vitamin ve mineral içeriğine sahiptir (Borowitzka 2018; Pelizer vd., 2020). *Arthrospira* spp. hücre duvarında selüloz eksikliği nedeniyle mikroalg ve makroalgelere kıyasla sindirimi kolaydır. Ayrıca, *Arthrospira* spp. antivirüs, antitümör, antioksidan, antiinflamatuvar, antialerjik, antidiyabetik ve antibakteriyel özellikler gibi terapötik (tedavi edici) özellikleri içerdiği ve çeşitli hastalıkları tedavi etme kabiliyeti olduğu bildirilmiştir (Finamore vd., 2017). *Arthrospira* spp. dünyanın çeşitli bölgelerinde yetersiz beslenen insanlar için yenilebilir besin, protein ve aminoasit kaynağı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, *Arthrospira* biomasları, Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından genel olarak güvenli olarak kabul edilen gıda sınıfındadır (Matos 2020). *Arthrospira* spp. alkali kültür koşulları altında doğal olarak gelişir. Gelişen trikomları, birkaç milimetre uzunluğunda ve 3-12 µm çapında silindirik hücreler içerir. Trichome tipik olarak sıkı bir sarmal olarak yönetilir ve gelişen trikomonun belirli interkalar hücrelerinin parçalanması yoluyla daha kısa filamanlara dönüşmesiyle çoğalır (Borowitzka 2018). *Arthrospira* spp. fotoototrofik (enerji olarak ışık ve karbon kaynakları olarak CO<sub>2</sub> kullanılarak), heterotrofik (organik karbon bileşikleri üzerinde) ve miksotrofik (aynı anda hafif ve anorganik karbon bileşikleri içinde) dâhil olmak üzere çeşitli koşullar altında büyüebilir. Fotoototrofik, mikroalglerin büyük ölçekli ticari yetiştiriciliği ekonomik olarak uygun bir yöntemdir. Açık havada ototrofik yetiştirme yöntemleri, enerji gereksinimlerini en aza indirmek için yaygın olarak uygulanmaktadır (Aishvarya vd., 2012). Ayrıca, başlangıçta *Arthrospira*'nın ticari kültürü için kullanılan açık kanallı havuz sistemi şimdi başka mikroalgal suşların toplu biyokimyasal üretimi için kullanılmaya başlamıştır (Sun vd., 2016). Açık sistemler, kapalı fotobiyoreaktörlere

kıyasla düşük üretim maliyetleri, düşük güç ihtiyaçları, uygun ölçek büyütme ve kolay temizleme süreçleri nedeniyle büyük ölçekli mikroalg kültürleri için yaygın olarak kullanılmaktadır (Furmaniak vd., 2017). *A. platensis* hakkında çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte *A. maxima* ile ilgili çalışma sayısı çok azdır. Farklı *Cyanobacteria* türleri arasında, protein içeriğinin en yüksek olduğu tür *A. maxima* olduğu bildirilmiştir (Ghosh vd., 2015). *A. maxima*'da bulunan proteinler arasında, fikobiliproteinler, fotosentezde verimli enerji transfer zincirine katılan aksesuar fotosentetik pigmentlerdir. Bu proteinler, emicilik özelliklerine ve doğal renklerine bağlı olarak üç ana grupta sınıflandırılan parlak renkli, hidrofilik ve stabil floresan protein pigmentleri; C-fikosiyenin (koyu mavi), A-fikosiyenin (mavimsi yeşil) ve fikoeritrin (koyu kırmızı)'dir (Raja vd., 2008). *Arthrospira* sp.'da bulunan C-fikosiyenin rapor edilen çok sayıda faydası bulunmaktadır. Örneğin hipokolesterolemik etki (Nakaya vd., 1988), antioksidan immünomodülatör aktivite (Kulshreshtha vd., 2008), antiherpes simpleks virüs aktivitesi (Hernández-Corona at al. 2002), vücut ağırlığı azaltma yeteneği (obez popülasyon için) (Vo vd., 2015) antimutajenik potansiyel (Chamorro-Cevallos vd., 2014) antikoagülatif ve antitrombotik aktivite gibi etkileri bulunmaktadır (Kamble vd., 2013).

### **2.1.2. *Pseudanabaena* sp.'nin Genel Özellikleri**

*Pseudanabaena* sp. ilk olarak Lauterborn tarafından 1915 tarihinde tür tanımı yapılmıştır. İlk zamanlar sadece *P. catenata* ve *P. constricta* (Szafer) türleri tanımlanırken, daha sonra yapılan detaylı araştırmalarla 1985'de Chang ve ekibi tarafından 33'ten fazla tür ve alt tür tanımlaması yapmışlardır (Kling ve Watson, 2003).

Türün sistematikteki yeri:

**Classis:** Cyanophyceae

**Ordo:** Oscillatoriales

**Familya:** Pseudanabaenaceae

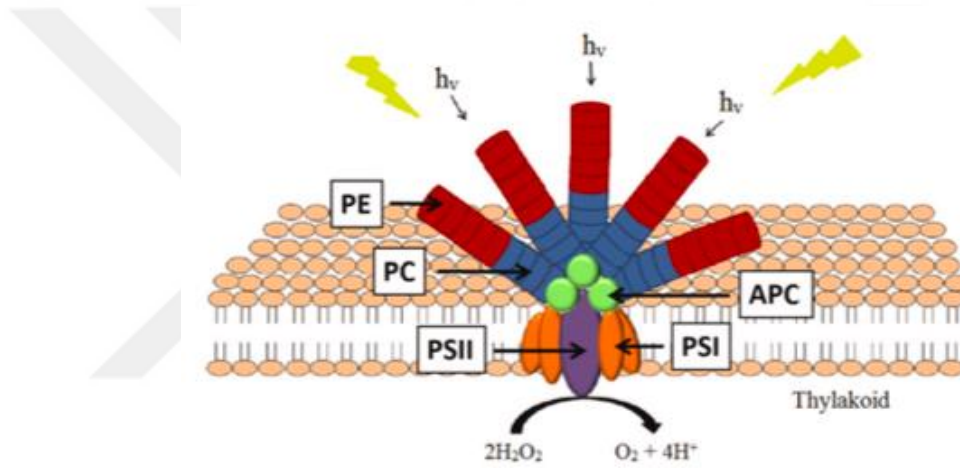
**Subfamilya:** Pseudanabaenoideae

**Genus:** *Pseudanabaena* (Ulçay vd., 2007)

*Pseudanabaena* sp. dallanma göstermeyen, basit, ipliksi yapıdaki alg hücreleridir. Şekilleri silindirik olup merkeze yakın bölgelerinde vakuoller içerirler. Hücreler birbirlerine müsilaaj köprülerle bağlanmıştır ve hücrelerin çevresinde müsilaaj kılıf yoktur. Spor ve heterosist oluşumu görülmez (Cirik ve Gökpınar, 2006). *Pseudanabaena* sp. ılımlı termofilik bir mavi-yeşil alg türüdür (Seckbach, 2007). Tallus oluşturmeyen tek tek bulunan trikomlara(tüyümsü çıkıntı) sahiptir. Trikomları koyu yeşilden mavi-yeşile dönük renktedir. *Pseudanabaena* sp. türleri filamentöz mavi-yeşil algler arasında az bilinen, göllerde ani alg çoğalmalarına neden olan mavi yeşil alglerdir. *Pseudanabaena* sp. türleri çok farklı habitatlarda bulunabilmektedir. Morfolojik çeşitlilikleri ve ekolojik gereksinimleri ise tam olarak bilinmemektedir. Birçok gölün planktonik içeriğinde *Pseudanabaena* türleri sayıca az miktarda bulunmaktadır (Kling ve Watson, 2003). Termal (sıcak) sularda, deniz sularında ve tatlı su kaynaklarında *Pseudanabaena* sp. canlılık gösterirler. Anaerobik ve sülfid içeren sedimentlerde ise bol miktarda bulunurlar. Tatlı suda bulunan bazı formlarında planktonik siyanobakterilerin müsilaajının içerisinde yer alırlar (Bergey ve Hold, 1994). *Pseudanabaena* sp., filamentöze sahip bir mavi-yeşil algdir. 1- 3 µm olan genişliğe sahiptir. Trikomları kısa ve silindirik yapılarıyla karakterizedir. Boyları hücre genişliklerinden daha fazladır. Paryetel tilakoidlere ve polar gaz veziküllerine sahiptirler ayrıca çapraz duvarları belirgin şekilde daralmıştır (Castenholz vd., 2001). Heterosist yapısı bulunmayan *Pseudanabaena* sp., bazı türlerinde tamamlayıcı kromatik adaptasyonu barındıran mavi-yeşil alg türüdür. Organizmaya yardımcı fotosentetik fikosiyenin(PC) ve fikoeritrin(PE) gibi renk pigmentlerinin oranlarının düzenlemesini bu özellik sağlar. *Pseudanabaena* sp. türünü bu özelliğinden dolayı diğer mavi-yeşil alg türlerinden daha üstün kılmaktadır. Anaerobik azot fiksasyonu yapma yeteneğine sahip bazı kültür edilmiş suşlar bulunmaktadır (Acinas vd., 2009). Ülkemizde termal mavi-yeşil alg içeriğine yönelik Cirik vd., (2008) ve Tamburacı (2009) tarafından yapılan çalışmalarda *Pseudanabaena* sp. nin baskın türler arasında bulunduğunu bildirilmiştir.

## 2.2. Mavi-yeşil Alglerin Pigment Proteinleri

Fotosistem I ve fotosistem II olarak iki fotoreaksiyon merkezi, mavi-yeşil alglerde fotosentez olayını gerçekleştirmektedir. Tilakoid membranda ise bu merkezin tüm bileşenleri yer almaktadır ve tilakoid membranda bulunan iki tane grup anten pigmenti mevcuttur. Birinci grupta yer alan klorofil a ve karotenoidler, ikinci grupta ise fikobilizomlar içerisinde yer alan fikobiliproteinlerdir. Birinci grupta bulunan anten pigmentler; emilen ışık enerjisini fotosistem I'e gönderirken, ikinci grup anten pigmentleri ise aynı şekilde emdikleri ışık enerjisini fotosistem II' ye gönderirler (Şekil 2.1.) (Tunail, 2009).



Şekil 2.1. Fikobiliproteinlerin yapısal organizasyonu PE: Fikoeritrin, PC: Fikosiyanin, APC: Allofikosiyanin, PSI: Fotosistem I, PSII: Fotosistem II (Hsieh-Lo vd., 2019)

Fikobiliproteinlerin yüzdesel dağılımında %75'ini fikosiyaninler (PC), %12'sini fikoeritrinler (PE), %12'sini ise allofikosiyaninler (APC) ve pigmentsiz polipeptit yapılar oluşturmaktadır (Tunail, 2009). Bu alglerde bulunan fikoeritrin (PE) ve fikosiyanin (PC) spektroskopik özelliklerine ve kromofor miktarına göre izole edildiğinde, sentez sırasında fikoeritrisiyonin ışık yoğunluğundan etkilendiği belirlenmiştir (Bryant, 1982). Fikobiliproteinler emilim özelliklerine fikosiyaninler (C-PC,  $\lambda_{\text{mak}}$ . 615-640 nm), fikoeritrinler (C-PE,  $\lambda_{\text{mak}}$ . 540-570 nm) ve allofikosiyaninler (C-APC  $\lambda_{\text{mak}}$ . 650-655 nm) olmak üzere 3 ana gruba ayrılırlar (Şekil 2.1.) (Bermejo vd., 2006).

### 2.2.1. C-Fikosiyanin

Fikosiyanin, mavi renkli fotosentetik bir pigment maddesidir. Suda çözülebilmesinin yanı sıra yüksek miktarda anti-oksidan ve güçlü floresan (ışık) özelliğine sahip bu pigment toksik olmayan bir bileşiktir. Siyanobakterilerde fazla miktarda bulunan fikosiyanin renk pigmenti ekonomik anlamda en önemli fikobiliprotein çeşitlerinden biri olarak gösterilmektedir. Fikosiyanin protoplazması içerisinde ise hücre kuru madde ağırlığının yaklaşık %20'sine kadar yüksek miktarlarda bulunabildiği bildirilmiştir (Santiago-Santos vd., 2004, Eriksen 2005).

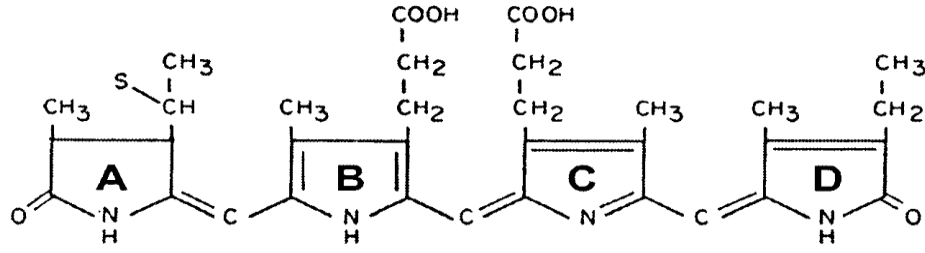
Bağlı bulunduğu mikroorganizma çeşidine ve ortam koşullarına göre fikosiyanin yapısı farklılık göstermektedir. Fikosiyanobilin kromoforu; fikosiyaninin prostetik grubu olarak kabul edilmekte olup proteine karakteristik mavi rengi veren bu kromofor farklı bölgelerden sistein aminoasitine bağlanarak fikosiyanin yapısının oluşumunu sağladığı yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Stec vd.,1999; Santiago-Santos vd., 2004; Contreras-Martel vd., 2007; Akoğlu ve Çakmakçı, 2011).

Kozmetik, ilaç ve gıda sanayilerinde doğal bir pigment olarak fikosiyanin, kanserojen olduğundan şüphe edilen sentetik pigmentlerin yerini alabileceği konusunda birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Mishra vd., 2010; Ramos vd., 2010; Mishra vd., 2011; Mishra vd., 2012; Sørensen, vd., 2013). Bu nedenden dolayı siyanobakteriden özütlenmiş hem doğal hemde mavi renkli bir pigment olan fikosiyanin üretimi oldukça ilgi görmektedir (Akoğlu ve Çakmakçı, 2011). Bu renk pigmentinin ışık hassasiyeti çok yüksek olduğundan dolayı renginin korunabilmesi ancak ışıktan korunmasıyla mümkün olabilmektedir. Güneşte doğal olarak kurutularak elde edilen ürünün pigment (fikosiyanin) içeriği düşük olmaktadır (Vonshak, 1997). Günümüzde başlıca içecek sanayinde ve şekerleme sanayinde olmak üzere yapay mavi renkli boyalar yerini doğal mavi renkli boyalara bırakmaktadır (Jespersen vd., 2005). Fikosiyaninin kullanım alanlarından bir diğeri de siyanobakterilerin fonksiyonel gıda olarak tüketilmesidir. Serbest radikallerin hücrelere verdiği zararları engellemek amacıyla antioksidanlar, insan besinlerine eklenmektedir. Hidroksil radikallerinin yok olmasında fikosiyaninin büyük bir kısmını oluşturan fikobilinin görev aldığı belirlenmiştir (Zhou vd., 2005).

Fikosiyaninin (C-PC) moleküler ağırlığı 44–260 kDa aralıklarında olduğu ve mevcut yapıları çeşitlilik gösterdiği belirlenmiştir. Bu çeşitlilikler ise monomerin kendi



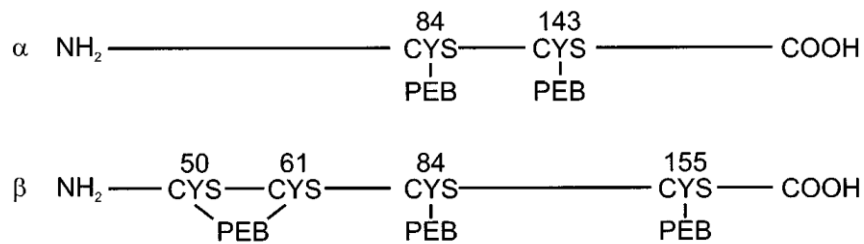
fikosiyanin yapısının (Şekil 2.4.) oluşmasını sağlamaktadır (Santiago-Santos vd., 2004; Contreras-Martel vd., 2007).



Şekil 2.4. Fikosiyanin genel yapısı

### 2.2.2. Fikoeritrin

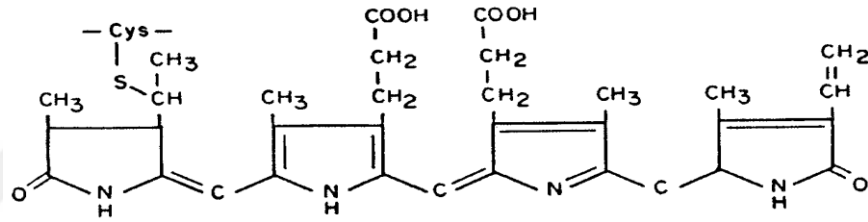
Fikoeritrin (PE); kırmızı renkli fikobiliprotein ihtiva etmektedir. Genellikle kırmızı alglerde bulunmakla birlikte mavi-yeşil alglerde bulunan kırmızı renkli kromoprotein renk pigmentidir. Kırmızı alglere kırmızı rengin verilmesini yanısıra kısa dalga boyundaki ışıkları absorbe etmesini sağlayan proteik boya maddesidir (Bat vd.,2014).  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere fikoeritrin iki alt zincirden oluşmaktadır (Şekil 2.5.) ve bu zincirler birbirine paralel şekilde durmaktadır.  $\alpha$  zincirinde, fikosiyanobilin 84. ve 143. Sistein (CYS) aminoasitine  $\beta$  zincirinde ise dört adet fikosiyanobilin 50. 61. 84. ve 155. Sistein (CYS) aminoasitlerine bağlı şekilde bulunmaktadır (Şekil 2.5. ve Şekil 2.6.) (MacColl, 1998).



Şekil 2.5. Fikoeritrinin zincir görünümü

Terapötik (tedavi edici) özelliğe sahip fikoeritrin pigmenti, suda eriyebilmesinin yanısıra birçok gıdalarda doğal renklendirici olarak, kozmetik ve eczacılık alanındada kullanılmaktadır. Fikoeritrin birçok farklı gıdalara doğal renk verici

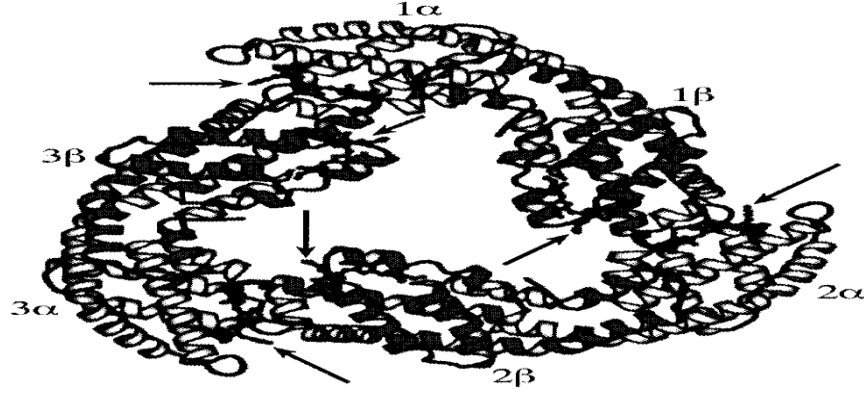
olarak uygulanmasından ayrı konfeksiyon, jelatin içeren tatlılar ve süt ürünleri gibi ürünlerde de kullanılmaktadır. Gıdaların farklılıklarına göre katılma oranları değişiklik göstermekte ve bu ortalama 50-100mg/kg olarak ayarlanmaktadır. Stailitesini 60°C' de 30 dk koruyan bu pigment, etkinliğini ve tazeliğini ise 6-7 pH aralığında korumaktadır. Biyoreaktörlerde güneş ışığı veya yapay ışıkla besleyici ortamlarda geliştirilen bu mikroalgler içeriğinde ki maksimum pigment konsatrasyonunu 20-30°C'de ve orta şiddet ışık altında sağlanmaktadır. Gıdalara bazı spesifik özellik kazandırmasının sebebi ise kırmızı fikoeritrinin sarı floresana(ışılma) sahip olmasıdır. Bu nedenden dolayı lolipoplarda, alkollü içeceklerde ve alkolsüz içeceklerde kullanım alanları yaygınlaşmıştır (Çelikel vd., 2006). Fikoeritrin floresan(ışılma) ışık altında parlak turuncu renk gösteren kırmızı renkli, 490- 570 nm dalga boyu aralığında maksimum absorbans(soğurma) değeri olan renk pigmentidir (Erdal ve Ökmen, 2013).



Şekil 2.6. Fikoeritrinin genel yapısı

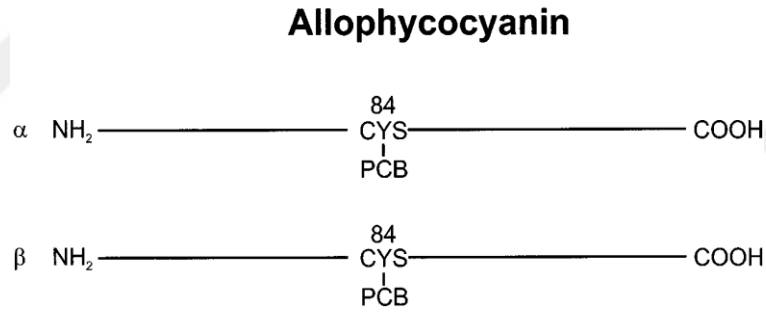
### 2.2.3. Allofikosiyanin

Fikosiyanin veya fikoeritrin molekülleri ile çevrili olan Allofikosiyanin ve trimerin en yüksek piki 650 nm dalga boyunda, monomeri ise 614 nm dalga boyunda vermektedir (Şekil 2.7.) (MacColl, 1998). Fikobilizomları ve fotosentetik lamelleri bağlayıcı pigment işlevini allofikosiyaninler yüklenirler (Sarada vd., 1999).



Şekil 2.7. Allofikosiyenin trimer görünümü

$\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere allofikosiyenlerinde fikosiyenin gibi iki alt zincirden oluşmaktadır ve bu zincirler birbirlerine paralel şekilde durmaktadır.  $\alpha$  zincirinde fikosiyanobilin (PCB) 84. Sistein (CYS) aminoasitine,  $\beta$  zincirinde ise 84. Sistein (CYS) aminoasitine bağlı olduğu görülmektedir (Şekil 2.8) (MacColl, 1998).



Şekil 2.8. Allofikosiyenin zincir görünümü

### 2.3. Konuyla İlgili Yapılan Çalışmalar

Besinsel değerlerinden daha önemlisi tüm siyanobakterilerin fikosiyenin içerikleri sebebiyle, başta bağışıklık sistemini uyardığını, antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, antikanser ve kolesterol düşürücü etkiler gösterdiği iddia edilmiştir. Japonya ve Çin'in sakız, şeker, süt ürünleri, reçel, dondurma, alkolsüz içecekler gibi gıda ürünlerinde ve ayrıca kozmetikte fikosiyenin doğal renklendirici olarak kullanıldığı bilinmektedir (Sekar ve Chandramohan, 2008; Ökmen ve Türkcan 2013). Fikosiyenin gardenya ve indigodan daha parlak mavi bir renklendirici olarak son

yıllarda yapılan bir çalışmada kabul edilmiş olup bunun jöle, sakız ve kaplamalı yumuşak şerkerlemlerde parlak mavi rengin sağlanması amacı ile kullanıldığı bilinmektedir (Jespersen vd., 2005; Ökmen ve Türkcan 2013). Bryant (1982), siyanobakterilerde bulunan fikosiyanın ve fikoeritrinlerin özelliklerini araştırmıştır. Fikoeritrosiyanın spektroskopik özellikler ve kromofom miktarına göre izole ve karakterize edilmişlerdir. Fikoeritrosiyanın sentezinin ışık yoğunluğundan etkilendiği belirlenmiştir.

Canto de Loura vd., (1987) nitrojen eksikliğinin siyanobakterilerdeki lipit ve pigmentlerin üzerine etkisini araştırmışlardır. Gelişmiş bitkiler ve ökaryotik alglerin aksine siyanobakterilerden *Pseudanabaena* sp. (M2suşu) ve *Oscillatoria splendida* (L3suşu)'nın büyüme sırasında nitrojen eksikliği, pigment kompozisyonunda değişikliklere yol açtığı gibi hücrede bulunan lipit ve yağ asidi kompozisyonunda ilk haline göre bir değişik gözlenmemiştir. Kloforil-a pigmentini nitrojen eksikliğinin etkilemediği ancak fikobiliproteinlerde zayıfata sebep olduğu anlaşılmıştır. *Pseudanabaena* sp.'nin yapılan çalışmalar sonucunda parinarik asit,  $\alpha$ -linolenik asit ve  $\nu$ -linolenik asit miktarınca zengin olduğu saptanmıştır. Chen ve Zhang, (1997) yaptıkları araştırmada ise *Spirulina platensis*'in kesikli kültürü 30°C'de tutulmuş ve 80-160  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-2}$ 'de sürekli aydınlanma sağlanmıştır. Çalışmanın devamında fotoototrofik kesikli kültürde en yüksek fikosiyanın miktarı 280  $\text{mgL}^{-1}$  olarak saptanmış olup biyomas yoğunluğu ise 2.0 $\text{gL}^{-1}$  olarak belirlenmiştir.

Sørensen vd., (2013) Fotosentetik pigment olan C-fikosiyanın *Galdieriasulphuraria*'dan saflaştırılmıştır. Diğer mavi-yeşil alg fikosiyanini ile *G. huraria*'dan ekstrakte edilen C-fikosiyanın aynı özellikleri gösterdiği ve başlangıçta az miktarda olan saflık derecesi amonyum sülfatla çöktürme yöntemini takiben sulu iki faz ekstraksiyonu, ultra filtrasyon ve iyon değişim kromatografisi gibi yöntemlerden sonra daha yüksek seviyelere ulaştığı görülmüştür.

Mavi-yeşil algler işlenmemiş gıda, zengin karotenoid, klorofil, fikosiyanın aminoasit, mineral ve daha birçok biyoaktif bileşik içeriği nedeniyle ilgi çekmektedir. Mavi-yeşil algler, izole edilebilecek biyokimyasal olarak aktif doğal ürünler açısından gelecek vaat eden organizmalardır. Mavi yeşil alglerin besin içerikleri buldukları yaşam alanlarına ve çevresel koşullara göre değişim göstermektedir (Singh vd., 2009). Kırmızı mikroalg türü olan *Porphyridium aegineum* alginden elde edilen pigment olan fikosiyanın renginin ışığa ve pH ya bağlı değişimlerine karşı stabil

kaldığı ancak sıcaklığa karşı duyarlı olduğu bildirilmiştir. Fikosiyanin farklı ortam koşullarında satabilitesinin belirlenmesi ile hangi gıda proseslerinde kullanılabileceğinin tespiti açısından önemli yere sahiptir. Özellikle asidik içeceklerde ve konfeksiyon ürünlerinde kullanılan bu renk maddesi ayrıca Pepsi® (sıcaklık uygulanmayan) ve Bacardi Breezer® içeceklerine ilave edilmektedir ve 1 ay boyunca renk kaybının olmadığı görülmüştür. Kuru gıdalarda kullanıldıktan sonra ürünün renk stabilitesinin maksimum olduğu, kek dekorasyonlarında kullanılan şekerli çiçeklerin renklerinin ise yıl boyunca stabil kaldığı belirtilmektedir (Eriksen, 2008; Sekar ve Chandramohan, 2008).

Moraes vd., (2011) yaptığı çalışmada gıdalarda doğal mavi renk olarak C-fikosiyaninin pigmentinin kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmalarda en basit ve en etkili bir metot olan 6 çeşitli kimyasal ve fiziksel metodları uygulamışlardır. Ekstraksiyonda en etkili metodun ultrasonik banyoda cam bilyeler ile olduğu ve bu metodun diğer metodlara kıyasla % 56 oranda daha etkili olduğu anlaşılmış ve verimin  $43.75 \text{ mg.g}^{-1}$  olarak saptanmıştır.

Ürünlerin renk kalitesini artırmak amacıyla kullanılan en etkin gıda katkı maddeleri arasında gıda boyaları yer almaktadır. Gıdada farklı işlemlerden sonra, depolama koşulları nedeniyle depolama sırasında kaybolan doğal rengi vermek ya da zayıf olan doğal rengi güçlendirmek veya doğal halinde renksiz durumda olan gıdalara renk vererek gıdaların daha cezbedici olmasını sağlamanın yanısıra piyasada kendini kanıtlamış veya kabul edilebilir ürünler üretmek sebebiyle birçok kullanım nedeni bulunmaktadır. Sentetik (yapay) renk maddesinin piyasaya girmesi ve seri üretimine başlanması sebebiyle doğal olarak üretilen renk maddelerinin yerini yapay renk maddeleri almıştır. Bu yapay renk pigmentlerinin birçok avantajlarının olmasının yanı sıra alerjik ve toksik etkileride mevcuttur. Bu nedenlerden dolayı ürünlerinde yapay renk maddesi kullanan üreticiler tekrar doğal renk maddelerini kullanmaya yöneltmiştir (Karaali ve Özçelik, 1993; Yentürk vd., 1998).

Siyanobakterilerin yapısında bulunan fikosiyanin içeriğinin aslında besinsel değerlerinin ötesindeki en önemli özelliği bağışıklık sistemini uyarmasının yanısıra antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, antikanser etki gibi tedavi edici özellik göstermesi ile birlikte kolesterolüde düşürdüğü kayıtlara geçmiştir. Biyolojik olarak birçok aktif bileşik içeren siyanobakteriler, gıda olarak tüketilmesi ile oluşan birçok

sağlık üzerine etkilerinin sadece fikosiyanın içeriği ile bağdaştırılmasının mümkün olmayacağını belirtmektedir (Eriksen 2008).

Birbirinden farklı siyanobakterilerden üretilen saf fikosiyanın içeriğinde antioksidan ile beraber radikal uzaklaştırıcı aktivitesi özelliğinde olduğu ve bu bağlamda saflaştırılmış C-PC'nin farmasötik ve nutrasötik olarak uygulanma potansiyeline sahip olduğunu birçok araştırmacı tarafından belirtilmektedir (Benedetti vd., 2006, Bermejo vd., 2006, Soni vd., 2008). Hidroksil radikallerinin ortadan kaybolmasında sorumlu ve etkili olan maddenin, fikosiyaninde büyük miktarını oluşturan fikosiyanobilin olduğu belirlenmiştir (Zhou vd., 2005).

C-PC yapısı, protein moleküllerine kovalent olarak bağlı bir açık zincirli tetrapireol kromoforundan (fikobilin) oluşmaktadır. Kromofor yapısı üzerindeki değişiklikler, renk kaybı ve antioksidan aktivite kayıplarına neden olmaktadır. Bu nedenle oksijen, serbest radikaller ve asitler gibi tetrapireol yapısı ile reaksiyona giren bileşikler, C-PC bozunmasını teşvik etmektedirler. Bu reaksiyonlar yüksek sıcaklıklarda ve ışığa maruz kalındığında daha hızlı gerçekleşmektedir (Stanic-Vucinic, vd., 2018).

C-PC stabilitesini etkileyen ana parametreler pH, sıcaklık ve ışıktır (Jaeschke vd., 2021) C-PC, 5 ile 7.5 arasında değişen pH'da heksamerik formun baskın olması nedeniyle daha karardır. Proteinlerin izoelektrik noktasına yakın bir yerde, kümelenme ve çökelme meydana geldiğinden dolayı bulanıklık, renk solması ve C-PC içeriği kayıplarına neden olmaktadır (Sarada vd., 1999).

C-PC kararlılığı üzerine diğer kritik faktör ise sıcaklıktır. Sıcaklığın 50 °C'nin üzerine çıktığı koşullarda C-PC bozunma oranları artmaktadır. Chaiklahan vd., (2012) C-PC'nin bozunma oranının 26 °C – 43 °C (pH 5-7) aralıklarında daha düşük olduğunu ve pigmentlerin 47 °C'den 64 °C'ye ısıtıldığında bozulma oranının arttığını bildirmiştir. Daha yüksek sıcaklıklarda renk kaybı proteinlerin çökelmesine bağlanmış, daha düşük sıcaklıklarda C-PC'nin nispeten kararlı olduğu, bununla birlikte ortam sıcaklığında 10 günlük inkübasyondan sonra C-PC içeriğinde %20'lik kayıplar olduğu rapor edilmiştir (Chaiklahan vd., 2012).

C-PC ışığa maruz kaldığında fotokimyasal bozulmaya pH 7'de pH 5'den daha duyarlıdır. Yapılan çalışmada 24 saat boyunca yoğun ışık maruziyeti (3x10<sup>5</sup> lux) altında, pH 7'de yaklaşık %80 ve pH 5'te ise yaklaşık %65'lik kayıplar gözlenmiş, her iki koşulda da protein denatürasyonunu gösteren bir çökelti gözlemlenmiştir

(Jespersen vd., 2005). Işığa kısa süreli maruz kalma bile renk kayıplarına neden olduğu (5 saat boyunca sarı, beyaz, UV-A ve UV-B ışığa maruz kalma, %13 C-PC kaybı) bildirilmiştir (Munawaroh vd., 2020).

Gıda formülasyonlarında C-PC uygulaması asitlere, ısıya ve ışığa duyarlılığı nedeniyle kullanımı sınırlıdır. Bu problemlerin üstesinden gelmek ve C-PC molekülünü korumak için stabilize edici ajanlar kullanılmaktadır. Bunlar arasında, küçük sakkaritler, proteinin doğal yapısını ve C-PC rengini koruyarak pozitif bir katkı göstermektedir. Tercihli dışlama teorisi, şekerin protein yapısı üzerindeki etkilerini açıklamak için önerilmektedir. Şekerler, protein-çözücü etkileşimlerinin modifikasyonlarını teşvik ederek, sistemin serbest enerjisini arttırarak ve protein katlanma durumunu destekleyerek yardımcı madde görevi görmektedirler (Faieta vd., 2020). Şeker tipi ve konsantrasyon C-PC stabilitesini etkiler. C-PC ekstraktlarının stabilitesini uzatmak için sükroz (%20, w/w) ve glukoz (%20, w/w) ilavesinin uygun olduğu düşünülmektedir (Stanic-Vucinic vd., 2018). Sükroz (%20, w/w) aynı konsantrasyonda trehalozdan daha olumlu bir etkiye sahip olduğu, farklı sakaroz konsantrasyonlarını karşılaştırırken, %70'i %20'den daha iyi bir koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Faieta vd., 2020).

Şekerlerin yanı sıra sodyum azid ve ditiyotritol gibi koruyucular da analitik kullanımlar için C-PC stabilize edici ajanlar olarak kullanılmaktadır. Ancak bu bileşikler toksiktir ve gıda veya farmasötik uygulamalar için uygun değildir (Mishra vd., 2008). İlave olarak, protein çapraz bağlama ajanları olan formaldehit ve glutaraldehit de C-PC stabilitesinin korunması için kullanılmaktadır. Çapraz bağlayıcılar, polimer zincirleri ve proteinler arasında ağlar oluşturarak alt birimlerde protein ayrışmasını önleyebilmektedir. Bazı olumlu sonuçlar sunmasına rağmen bu bileşiklerin çoğu toksiktir ve gıda uygulamalarında kullanılmayabilirler (Sun vd., 2006).

Son zamanlarda, doğal polimerler C-PC koruması için değerlendirilmiştir. Pek çok yazar, gıda işleme koşulları altında düşük pH değerlerinde C-PC yapısını korumak için proteinlerin kullanılmasını önermişlerdir. Çalışılan bu bileşikler arasında peynir altı suyu proteininin düşük pH değerlerinde (3-7), yüksek sıcaklıkta (80 °C) ve yüksek basınç koşullarında mavi renk stabilitesine katkıda bulunduğu görülmüştür (Panutai vd., 2018; Zhang vd., 2020). Bununla birlikte, bu bileşiklerin farklı işleme

koşulları altında C-PC yapısı üzerindeki etkisini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır (Jaeschke vd. 2019).

Kannaujiya ve Sinha (2016) tarafından gıda sınıfı koruyucuların fikosiyanın (PC) ve fikoeritrin (PE) üzerine termokinetik etkileri belirlenmiştir. Bu çalışmada, bir kaplıca siyanobakterisinden, *Nostoc* sp.'den ekstrakte edilen PC ve PE'nin sırasıyla 3.18 (A615/A280) ve 7.2 (A563/A280) saflıkta izole edilmiştir. Saflaştırılmış PC ve PE'nin termokinetik stabilitesi, +4, +25 ve +40 °C'de 30 günlük inkübasyon boyunca benzoik asit, sitrik asit, sakaroz, askorbik asit ve kalsiyum klorür gibi yenilebilir koruyucuların varlığında incelenmiştir. PC/PE'nin bozunma hızı kontrol grubunda (koruyucu ilave edilmeyen) artarken, koruyucuların ilave edildiği gruplarda azaldığı belirlenmiştir. Bozulma hızı (1.gün), +4 °C'de kontrole kıyasla benzoik asitle muamele edilmiş grupta PC/PE değeri en düşük bulunmuştur. Ayrıca bozunma hızı 40°C'de benzoik asitle muamele edilmiş PC ve PE'de kontrol ile karşılaştırıldığında düştüğü görülmüştür. Sitrik asit ve sukrozun aynı sıcaklıkta hem PC hem de PE'nin stabilitesini koruduğu saptanmıştır. Kalsiyum klorür (CaCl<sub>2</sub>) ve askorbik asit, çalışılan diğer koruyuculara kıyaslandığında PC ve PE'nin en az stabilitesini destekleyen koruyucular olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, benzoik asidin 4 °C'de hem PC hem de PE için en iyi koruyucu olduğu bulunmuştur (Kannaujiya ve Sinha 2016).

Wu vd., (2016) tarafından *S. platensis*'ten elde edilen gıda sınıfı fikosiyanın üzerine yenilebilir koruyucuların (sükroz, glukoz, sodyum klorid), pH ve sıcaklığın etkilerinin spektrofotometrik yöntemle belirlemişlerdir. Çalışma sonuçları gıda sınıfı fikosiyanın stabilitesini korumak için en uygun koşulların pH 5.0-6.0, düşük sıcaklık, karanlık ve yenilebilir stabilize edici ajanların eklenmesi olduğunu göstermiştir. Bhattacharya vd., (2018) tarafından doğal koruyucu ε-Polyisin ve kimyasal koruyucu sitrik asidin +4 ± 2 °C'de C-PC ve C-PE'nin stabilitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Sekiz günlük depolama sonucunda PC ve PE'de renk ve pH'da sitrik aside göre ε-polilisin (w/v) nin %0.02 daha iyi olduğu bulunmuştur. ε-polilisin içeren solüsyonda C-PC ve C-PE miktarı sırasıyla %90.5 ve %95.24 oranında korunduğu bildirilmiştir. Bu sonuca göre kimyasal veya sentetik koruyucuların doğal koruyucu ε-polilisin ile değiştirilmesi gerektiği, çünkü bu kimyasal veya sentetik koruyucuların uzun süreli tüketimi sağlığa zararlı olduğu, mevcut çalışma ile

kimyasal veya sentetik koruyucuların doğal koruyucu olarak  $\epsilon$ -polilisin ile değiştirilmesi için etkili bir seçenek sunduğu bildirilmiştir (Bhattacharya vd., 2018).

Safari vd., (2018) tarafından *S. Platensis*'ten özütlenen fikosiyanın stabilitesi üzerine sıcaklık, süre ve pH'nın etkileri çalışılmıştır. Fikosiyanın stabilitesi, sıcaklık (-18, 4 ve 10°C), pH (4.5, 5.5 ve 7) ve süre (15, 30 ve 45 gün) olmak üzere üç faktöre dayalı tamamen rastgele bir tasarımda bölünmüş faktöriyel deney ile belirlenmiştir. Ham özütteki fikosiyanın konsantrasyonu ve saflığı sırasıyla 1,815 mg/ml ve 0,825 iken, saflaştırılmış özütteki fikosiyanın konsantrasyonu ve saflığı sırasıyla 3,751 mg/ml ve 1,135 olarak bulunmuştur. Bu değerler, çeşitli sıcaklıklarda depolama süresinin artmasıyla fikosiyanın stabilitesinin nispeten azaldığını göstermiştir. Bununla birlikte, fikosiyanın en yüksek stabilitesi, -18°C'de ve daha sonra 4°C'de gözlenmiştir. Depolama sıcaklığının 10°C'ye yükseltilmesiyle, özellikle 5.5'lik bir pH'da fikosiyanın stabilitesi büyük ölçüde azaldığı ve absorbansın(soğurma) 30 günde sıfıra düştüğü tespit edilmiştir. Fikosiyanın minimum konsantrasyon kaybı için en iyi koşullar, -18 °C'de 4,5 pH'da ve 30 günlük depolama süresinde olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, süt ürünleri ve dondurma gibi soğuk veya dondurucu sıcaklıklarda saklanan gıda ürünlerinde fikosiyanın kullanmak mümkün olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Safari vd., 2018).

Khandual vd., (2021) tarafından Meksika'da *Arthrospira platensis*'den fikosiyanın özütlenmesi ve stabilitesi değerlendirilmiştir. En yüksek fikosiyanın içeriği çözücü olarak su kullanarak ultrasonikasyon ile kuru biyokütleden özütlenmiştir. Kuru biyokütle için optimum ekstraksiyon koşulu 1:50 biyokütle/çözücü oranı olarak belirlenmiş, 20 dakika dondurma/çözündürme yöntemi iki kez tekrarlanmış ve ardından 120 rpm'de 24 saat çalkalanarak gerçekleştirilmiştir. Biyomasın fikosiyanın içeriği 48,88 mg/g ve saflık ise 0,47 olarak tespit edilmiştir. Fikosiyanın stabilitesi en iyi pH 7'de, -20 °C'de 35 günlük depolama sonucu elde edilmiştir. Çözücü olarak suyun kullanıldığı ekstarksiyon işleminin sonucunda maksimum fikosiyanın verimi elde edilmesi ise yazarlar tarafından ilginç olarak yorumlanmıştır (Khandual vd., 2021).

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Çalışmamızda kullanılan türler

Çalışmamızda daha önce liyofilize edilerek buzdolabı şartlarında cam şişede saklanan ham *Pseudanabaena* sp. ve ticari olarak pazarlanan *Arthrospira maxima* (HANNA Spirulina, Türkiye) örnekleri kullanılmıştır.

##### 3.1.2. Stabilite testlerinde kullanılan tamponlar ve hazırlanışı

###### 3.1.2.1. Fosfat tamponu

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Sodyum dihidrojenfosfat) 15,601 g (1 mmol) tartılarak bir miktar saf su içerisinde çözündürülmüş ve son hacim 1 L'ye tamamlanarak hazırlanmıştır (Anonim, 2011). Stabilite testlerinde 0,02 g PC örneği 50 ml fosfat tamponu içerisinde çözündürülerek yapılmıştır (pH: 6,95) (Şekil 3.1.). Örneğin saf su içerisinde çözündürülen çözeltinin pH değeri ise 6,80 olarak ölçülmüştür.



Şekil 3.1. Fosfat tampon çözeltinin hazırlanışı (Orijinal)

### 3.1.2.2. Sitrik asit tamponu

$C_6H_8O_7 \cdot H_2O$  (Sitrik Asit Monohidrat)'tan 0,2 g tartılarak 0,02 g PC örneği içerisinde çözülmüş ve son hacim 50 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır (pH: 2,30) (Şekil 3.2.) (Anonim, 2011).



Şekil 3.2. Sitrik asit tampon çözelti hazırlama (Orjinal)

### 3.1.2.3. Sükroz (Sakkaroz) tamponu

$C_{12}H_{22}O_{11}$  (Sükroz)'dan 0,2g tartılarak 0,02 g PC örneği içerisinde çözülmüş ve son hacim 50 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır (pH: 7,03) (Anonim, 2011).

### 3.1.2.4. Kalsiyum klorid tamponu

$CaCl_2$  (Kalsiyum klorür)'den 0,2g tartılarak 0,02 g PC örneği içerisinde çözülmüş ve son hacim 50 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır (pH: 6,25) (Şekil 3.3.) (Anonim, 2011).



**Şekil 3.3. Kalsiyum klorür tampon çözeltisinin hazırlanışı (Orjinal)**

#### *3.1.2.5. Kalsiyum Klorür ve Sükroz tamponu*

$\text{CaCl}_2$  (Kalsiyum klorür)'den ve  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$  (Sükroz)'dan 0,2g (Toplam 0,4g) tartılarak 0,02 g PC örneği içerisinde çözülmüş ve son hacim 50 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır (pH: 6,32) (Anonim, 2011).

### **3.2. Metot**

#### **3.2.1. Özütleme öncesi örneklerin nem tayini**

*Pseudanabaena* sp. ve *A. maxima* örneğinden belirli bir miktar otomatik nem tayin cihazının (Infrared Moisture Analyzer MA35,Çin) haznesine koyularak üç (3) tekrarlı analiz sonucunda kurutulmuş örneklerin nem içerikleri belirlenmiştir (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Örneklerin nem tayini (Orijinal)

### 3.2.2. C-Fikosiyaninin özütlenmesi

Liyofilize edildikten sonra buzdolabı şartlarında cam kavanozda saklanan ham *Pseudanabaena* sp. örnekleri ve orijinal ambalajında kurutulmuş ambalajlanmış toz halindeki *A. maxima* örnekleri C-fikosiyanin özütlenmesinde kullanılmıştır. Fikosiyaninin özütleme işlemi daha önce yapılmış çalışmalarda en ideal yöntem olarak tespit edilmiş olan termal şok (dondurup/çözündürme) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Liyofilize *Pseudanabaena* sp. ve kurutulmuş toz *A. maxima* örneklerinin özütlenmesi saf su ve fosfat tamponu ile gerçekleştirilmiştir. Her iki gruptan örnekler falkon tüplerine hassas terazide 0.5 gr tartılmış (Şekil 3.5.) ve üzerlerine 25 ml saf su veya 25 ml fosfat tamponu ilave edilmiştir. Takiben örnekler vortekslenerek (Velp, ZX3 Advanced Vorteks 3000 rpm, İtalya) (Şekil 3.6.) homojen karışımları sağlanmıştır.



**Şekil 3.5. Örneklerin hassas terazide tartımı (Orijinal)**



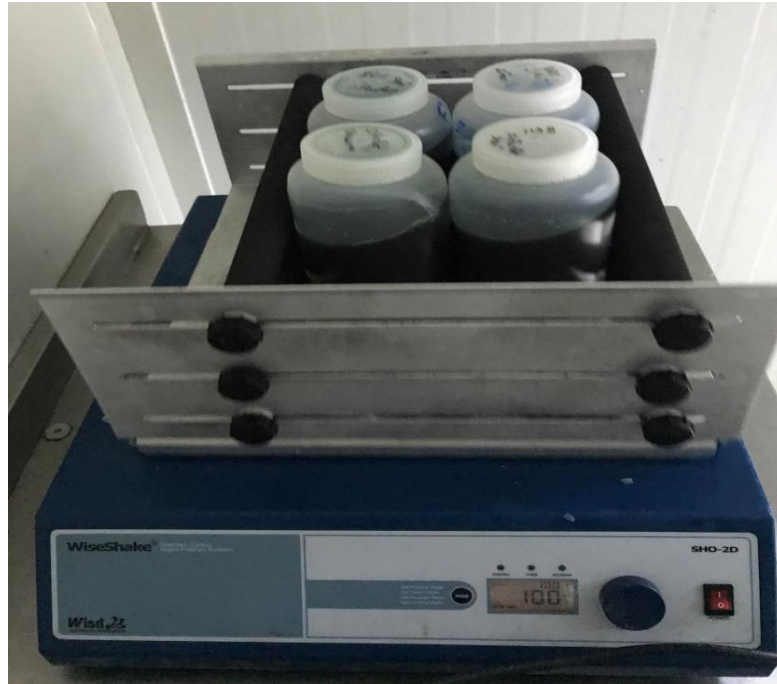
**Şekil 3.6. Örneklerin vortekslenmesi (Orijinal)**

Vortekslenerek homojen karışımı sağlanmış örnekler  $-20^{\circ}\text{C}$  de minimum 5 saat dondurulmuştur. Takiben dondurulmuş örnek tüpleri, buz aküleriyle soğutularak sıcaklığın  $30^{\circ}\text{C}$ 'nin üstüne çıkması engellenecek şekilde ultrasonik banyoda (Elmosonic, Elma S120H, Almanya) 30'ar dakika süreyle toplamda 1 saat çözündürülmüştür (Şekil 3.7.). Ultrasonik banyo kullanılarak çözündürülen örnekler orbital karıştırıcıya yerleştirilmiş, takiben  $30^{\circ}\text{C}$  oda sıcaklığında ve karanlıkta 1 gece

100 rpm de çalkalayıcıda (Digital Ortital Shakers, WiseShake SHO-2D, Kore) tutulmuştur (Şekil 3.8.). Takiben örnekler 8.000 x g'de soğutmalı santrifüj kullanılarak (Hanil Supra 22K, Kore) +4°C'de 30 dakika santrifüj edilmiştir (Şekil 3.9.). Santifüj sonrası mavi renkli üst faz (süpernatant) temiz bir falkon tüpüne aktarılmıştır.



Şekil 3.7. Örneklerin ultrasonik banyo kullanılarak çözündürülmesi (Orijinal)



Şekil 3.8. Örneklerin karıştırıcı kullanılarak çözündürülmesi (Orijinal)



**Şekil 3.9. Örneklerin yüksek hızlı soğutmalı santrifüj cihazında santrifüj işlemi (Orijinal)**

Spektrofotometrik ölçüm öncesi falkon tüpüne ayrılmış olan koyu mavi renkli üst faz, çözünmeyen kaba partiküllerin tamamının uzaklaştırılması amacı ile mikrofiltre şırınga (25mm 0.45  $\mu\text{m}$ ) kullanılarak süzme işlemine tabi tutulmuştur (Şekil 3.10. ve Şekil 3.11.).



**Şekil 3.10. Örneklerin filtrasyon (25mm 0.45  $\mu\text{m}$ ) işlemi (Orijinal)**



Şekil 3.11. Örneklerin filtrasyon (25mm 0.45 µm) işlemi (Orijinal)

### 3.2.3. C-Fikosiyaninin içeriğinin hesaplanması

*Pseudanabaena* sp.'nin ve *A. maxima* örneklerindeki fikobiliproteinlerin hesaplanmasında Patil vd. (2008)'in bildirdiği eşitlikler kullanılmıştır. Mavi-yeşil alg örneklerinin ekstraktlarını 8 000 x g'de +4 °C de 30 dk yüksek hızlı soğutmalı santrifüjde santrifüj edildikten sonra alınan süpernatantlar UV-VIS spektrofotometrede (PG Instruments, T80 UV-VIS Spektrofotometre, Çin) C-fikosiyaninin maksimum optik yoğunluk gösterdiği dalga boylarında ki (280, 620 ve 652 nm) absorbansları köre karşı ölçülmüş (Şekil 3.12. ve Şekil 3.13.) ve elde edilen absorbans verilerinden PC içerikleri (mg/mL), verim (mg/g) ve saflıklar hesaplanmıştır.



**Şekil 3.12. Örneklerin UV-VIS spektrofotometrede absorban ölçümü (Orijinal)**

Patil vd., (2008) tarafından bildirildiği gibi PC içeriği aşağıda 1 nolu eşitlikte verilen formüle göre hesaplanmıştır. PC'nin saflık derecesi ise maksimum absorban gösterdiği değerin, toplam proteinlerin absorban değerine bölümüyle elde edilmiştir (OD<sub>620</sub>/OD<sub>280</sub>). PC'nin özütlenme verimi ise 2 nolu eşitlikte verilen formül kullanılarak yapılmıştır.

1. **PC (mg/mL) = (OD<sub>620</sub>-0,474(OD<sub>652</sub>)/5.34**
2. **PC verim (mg/g) =[PC (mg/ml) x V]/ liyofilize biomas (g)**



**Şekil 3.13. Örneklerin UV-VIS spektrofotometrede absorbans ölçümü (Orijinal)**

#### **3.2.4. Ultra santrifüj işlemi**

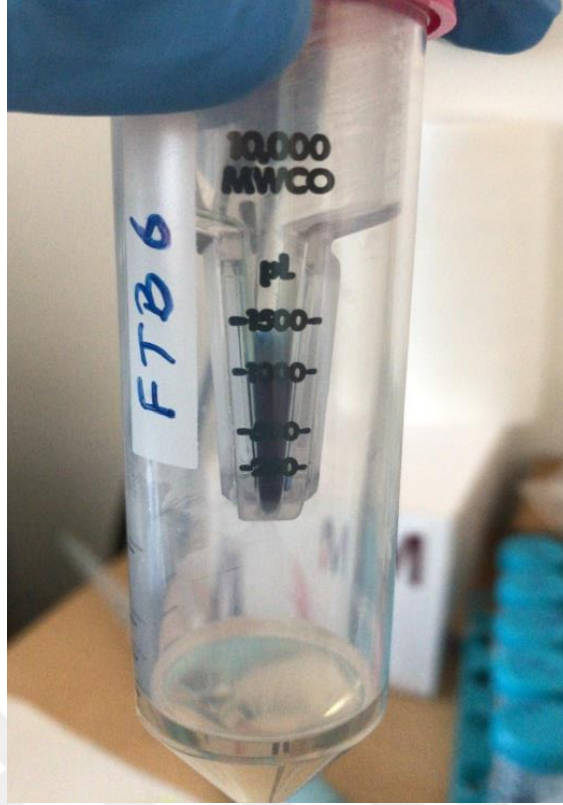
Mikrofilter şırınga kullanılarak süzölmüş örnekler Amicon Ultra Santrifüj tüpleri kullanılarak santrifüj edilmiştir. Süzölmüş PC içeren örneklerden 8 ml 10K ve 50K Amicon Ultra santrifüj tüplerine aktarılmıştır (Şekil 3.14.). Yüksek Hızlı Soğutmalı Santrifüjde 5000 g de + 4°C de 30 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirilmiş ve PC konsantre hale getirilmiştir (Şekil 3.15. Şekil 3.16.).



Şekil 3.14. Örneklerin ultra santrifüj tüplerine eklenme işlemi (Orijinal)



Şekil 3.15. Ultra santrifüj tüpleriyle örneklerin yüksek hızlı soğutmalı santrifüjde santrifüj işlemi (Orijinal)



**Şekil 3.16. Santrifüj sonrası yüksek saflıktaki C-fikosiyanin içeren örnek (süpernatant)  
(Orijinal)**

Amicon Ultracel 10K ve 50K santrifüj tüpleri ile konsantre edilen örneklerden 50 µl alınarak 1950 µl saf su ile tamamlayarak **40 kat** seyreltme işlemi uygulanmıştır. Örneklerin spektrofotometrik absorbans ölçümleri yapılmış ve daha önce verilmiş olan eşitlikler kullanılarak PC içeriği, verim ve saflık hesaplamaları yapılmıştır.

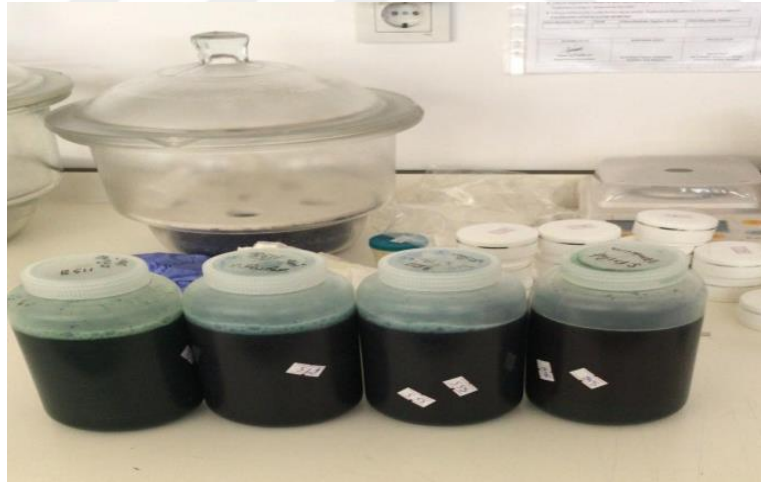
### **3.3. Çeşitli koruyucuların PC'nin sıcaklık dayanımı üzerine etkisinin belirlenmesi**

Çeşitli koruyucuların PC'nin sulu çözeltilerindeki etkilerinin belirlenmesi için liyofilize haldeki *Pseudanabaena* sp. örneğinden ve kuru toz *A. maxima* örneğinden 16g alınmış ve üzerine 800 ml safsu ya da fosfat tamponu ilave edilmiştir. Örnekler vorteksledikten sonra -20 °C de minimum 5 saat dondurulduktan sonra oda sıcaklığına ayarlanmış ultrasonic banyoda 30ar dakikalık 2 tekrar sonucunda çözünen örnekler karanlıkta 1 gece 100 rpm de çalkalayarak tutulmuştur. Gece sonunda örnekler tekrar -20 °C minimum 5 saat dondurulmuş, takiben tekrar 30ar dakikalık 2

tekrar ile ultrasonik su banyosunda çözüldürülen örnekler tekrar karanlıkta 1 gece 100 rpm de çalkalama işlemine tabi tutulmuştur.



**Şekil 3.17. Ultra soğutmalı santrifüj işlemi sonrası örnekte oluşan çökelti (Orijinal)**



**Şekil 3.18. Örneklerin ultra soğutmalı santrifüj sonrası oluşan üst faz (Orijinal)**

Takiben örnekler 8000 g de + 4°C de 30 dakika yüksek hızlı soğutmalı santrifüjde santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.17. ve Şekil 3.18.). Santrifüj sonrası PC içeren berrak mavi renkli üst faz dikkatlice ayrılarak liyofilize edilmek üzere -80 °C de dondurulmuştur. PC özütleme işlemi gerçekleştirilmiş olan örnekler Thermo Liyofilizatör kullanılarak tamamen kuruyuncaya kadar liyofilize edilmiştir (Şekil 3.19.).



**Şekil 3.19. Liyofilize edilmiş C-PC örnekleri (Orijinal)**

C-PC'nin stabilitesi üzerine farklı sıcaklıklarda koruyucuların etkisi Kannaujiya ve Sinha (2016) tarafından bildirilen yöntem kullanılarak yapılmıştır. Liyofilize PC örnekleri hassas terazide 3 paralel toplam 72 tüpe 20 mg C-PC ve üzerlerine ayrı ayrı 0,2 gr çeşitli koruyucu (Sitrik Asit, Kalsiyum klorür, Sükroz) tartılmış ve 50 ml saf su ilave edilmiştir. Sükroz+Kalsiyum Klorür tüplerine ikisinden 0,2 gr olmak üzere 0,4 gr tartılmış ve 50 ml saf su ilave edilmiştir. Kontrol tüplerine herhangi bir koruyucu ilave edilmeden sadece 20 mg C-PC ile 50 ml saf su veya fosfat tamponu ilave edilmiştir. Karışımlar 4 °C ve 25 °C'de 80 gün karanlık ortamda tutulmuştur. Örnekler 5'er günlük aralıklarla UV-VİS Spektrofotometre kullanılarak C-PC verimi daha önce anlatılan eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

C-PC içeriğinde farklı sıcaklıklarda depolama sonucu ortaya çıkan kayıplar Chaiklahan vd., (2012) tarafından bildirilen yöntemle hesaplanmıştır. Burada t zamanında hesaplanan C-PC içeriğinin ( $C_t$ ), başlangıç C-PC içeriğine ( $C_0$ ) bölünüp 100 ile çarpılması ile kayıp oranı hesaplanmıştır (Chaiklahan vd., 2012). Tüm deneme gruplarında hesaplanan 0. gün C-PC değeri 100 kabul edilmiş % kayıplar belirlenmiştir. Hesaplamanın yanı sıra tüm grupların spektrofotometrik ölçüm gününde fotoğraflanarak kayıt altına alınmıştır.

### 3.4. İstatistikî analizler

Farklı tampon çözeltiler kullanılarak özütlenen C-PC'de, verim ve saflık denemeleri 6 tekrarlı, diğer tüm denemeler ise 3 tekrarlı çalışılmış olup analiz sonuçları ortalamalar ve standart sapma ile birlikte verilmiştir. Elde edilen analiz verileri SPSS 20,0 paket programında tek yönlü 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. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Örneklerin Nem İçerik Analiz Sonuçları

Liyofilize *Pseudanabaena* sp. örneğinin ve kurutulmuş toz halindeki *A. maxima* örneğinin % nem içerikleri otomatik nem tayin cihazı kullanılarak belirlenmiş olup sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çizelge 4.1’e göre liyofilize edildikten sonra buzdolabı şartlarında cam şişelerde depolanan *Pseudanabaena* sp.’nin nem içeriği  $6,93\pm 0,68$  kurutulmuş toz halinde orijinal ambalajından çıkarılan *A. maxima*’nın ise  $9,55\pm 0,87$  değeri ile önemli ( $P<0,05$ ) oranda yüksek tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Örneklerin nem içerikleri (% Kuru Ağırlık)

	Nem ORT±SS
<i>Pseudanabaena</i> sp.	$6,93\pm 0,68^b$
<i>A. maxima</i>	$9,55\pm 0,87^a$

SS= Standart Sapma ( $\pm$ ), n=3

Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ( $P<0,05$ )

### 4.2. Örneklerin Fikosiyanin, Verim ve Saflık Analiz Sonuçları

*Pseudanabaena* sp. ve *A. maxima* örneklerinin saf su ve fosfat tamponu kullanılarak yapılan C-PC özütleme işlemi sonucunda ve özütlenmiş örneklerde iki farklı ultra santrifüj tüpü (Amicon 10kDa ve Amicon 50kDa) kullanılarak yapılan santrifüj işlemi sonucunda spektrometrik ölçüm sonucu hesaplanan C-Fikosiyanin (mg/ml), verim (mg/g) ve saflık değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. En yüksek C-PC içeriği fosfat tamponunda özütlenen, saf suda özütlendikten sonra 10 kDa’da ultra santrifüj yapılan *Pseudanabaena* sp. ve saf suda özütlendikten sonra 10 kDa’da ultra santrifüj yapılan *A. maxima* örneklerinde tespit edilmiştir. En düşük C-PC içeriği ise fosfat tamponu ile özütlendikten sonra 50 kDa’da ultrasantrifüj yapılan örnekte bulunmuştur. Saf su ile özütlendikten sonra 10 kDa’da ultra santrifüj edilen

*Pseudanabaena* sp. örneğinin C-PC saflığı diğer gruplardan önemli ( $P<0,05$ ) oranda yüksek belirlenmiştir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. İki farklı tampon kullanılarak özütlenen örneklerin C-Fikosiyanin, verim ve saflık değer sonuçları

	Özütleme Yöntemi	C-Fikosiyanin	Verim	Saflık
		ORT±SS (mg/ml)	ORT±SS (mg/g)	ORT±SS
<i>Pseudanabaena</i> sp.	Saf Su	0,29±0,01 <sup>bc</sup>	14,36±0,42 <sup>bc</sup>	1,16±0,02 <sup>cd</sup>
	Fosfat Tamponu	0,36±0,01 <sup>a</sup>	17,78±0,35 <sup>a</sup>	1,05±0,01 <sup>d</sup>
	Saf Su,10kDa,40x	0,33±0,04 <sup>ab</sup>	16,34±2,13 <sup>ab</sup>	1,60±0,09 <sup>a</sup>
	Fosfat Tamponu,10kDa,40x	0,21±0,11 <sup>d</sup>	10,64±5,52 <sup>d</sup>	1,22±0,18 <sup>bc</sup>
	Safsu,50kDa,40x	0,29±0,05 <sup>bc</sup>	14,39±2,52 <sup>bc</sup>	1,18±0,11 <sup>bcd</sup>
	Fosfat Tamponu,50kDa,40x	0,15±0,03 <sup>e</sup>	7,54±1,55 <sup>e</sup>	1,07±0,05 <sup>d</sup>
<i>A. maxima</i>	Saf Su	0,26±0,00 <sup>c</sup>	13,05±0,08 <sup>c</sup>	1,17±0,01 <sup>cd</sup>
	Fosfat Tamponu	0,26±0,00 <sup>c</sup>	13,19±0,01 <sup>c</sup>	1,07±0,01 <sup>d</sup>
	Saf Su,10kDa,40x	0,33±0,03 <sup>ab</sup>	16,45±1,46 <sup>ab</sup>	1,29±0,18 <sup>b</sup>
	Fosfat Tamponu,10kDa,40x	0,28±0,03 <sup>bc</sup>	13,80±1,39 <sup>bc</sup>	1,18±0,08 <sup>bcd</sup>
	Safsu,50kDa,40x	0,29±0,02 <sup>bc</sup>	14,28±1,16 <sup>bc</sup>	1,16±0,14 <sup>cd</sup>
	Fosfat Tamponu,50kDa,40x	0,27±0,02 <sup>c</sup>	13,47±0,87 <sup>c</sup>	1,14±0,01 <sup>cd</sup>

S.S.= Standart Sapma ( $\pm$ ), n=6

Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ( $P<0,05$ )

### 4.3. C-PC nin Farklı Koruyucularla Muhafazasındaki Renk Değişimleri

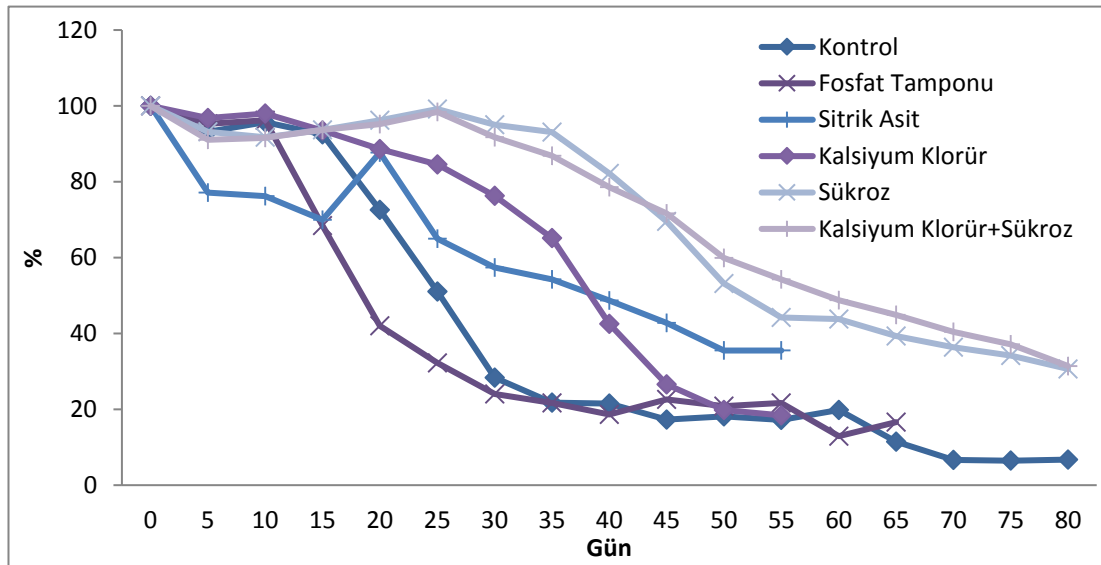
*Pseudanabaena* sp. ve *A. maxima*'dan elde edilmiş olan liyofilize C-PC örnekleri farklı koruyucu çözeltiler (sitrik asit, kalsiyum klorür, sükroz ve kalsiyum klorür+sükroz) içerisinde çözündürülerek 4 °C ve 25 °C'de depolanmış ve C-PC içeriğindeki değişimler spektrofotometrik ölçüm ile belirlenmiştir. Depolama başlangıcındaki (0. Gün) C-PC içeriği 100 kabul edilerek renk değişimine bağlı içerikteki % oransal azalma hesaplanarak Çizelge 4.3-6 ve Şekil 4.1;4.8;4.15;4.22'de verilmiştir. *A. maxima* örneklerin den elde edilen C-PC'nin farklı koruyucuların ilavesi ile 4 °C'de depolama sonucu ortaya çıkan kayıp %40'ın altına kontrol, fosfat tamponu, sitrik asit, kalsiyum klorür, sükroz ve kalsiyum klorür + sükroz gruplarında sırasıyla depolamanın 30., 25., 50., 45., 65. ve 75. günün de düşmüştür. Tüm deneme

grupların da depolama ilerledikçe C-PC içeriğinde istatistiki olarak önemli ( $P<0,05$ ) kayıplar belirlenmiştir (Çizelge 4.3.).

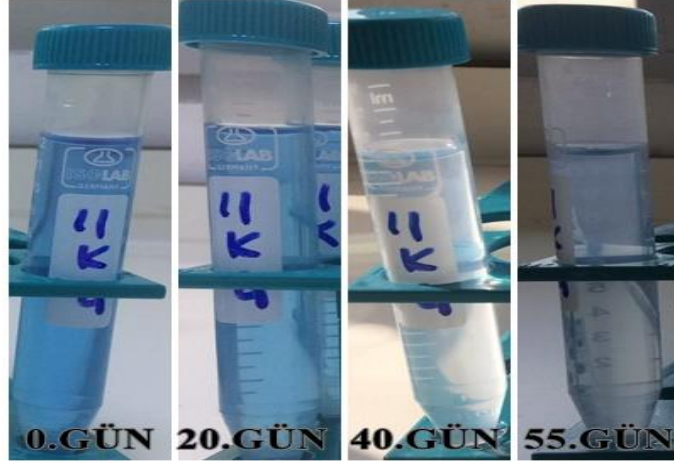
Çizelge 4.3. Farklı koruyucuların +4 °C'de *A. maxima*'nın C-PC içeriği üzerine etkisi

Gün	Kontrol ORT± SS	Fosfat Tam. ORT± SS	Sitrik Asit ORT± SS	CaCl <sub>2</sub> ORT± SS	Sükroz ORT± SS	CaCl <sub>2</sub> +Sükroz ORT± SS
0	100 <sup>a</sup>	100	100	100	100	100
5	93,18±0,86 <sup>bc</sup>	95,30±1,11 <sup>b</sup>	77,19±2,15 <sup>c</sup>	96,78±0,56 <sup>c</sup>	93,13±0,37 <sup>bc</sup>	91,09±0,70 <sup>c</sup>
10	95,69±0,65 <sup>b</sup>	96,18±0,28 <sup>b</sup>	76,24±3,06 <sup>c</sup>	98,02±0,61 <sup>b</sup>	91,69±0,70 <sup>c</sup>	91,54±0,55 <sup>c</sup>
15	95,52±1,79 <sup>c</sup>	68,43±0,57 <sup>c</sup>	69,97±0,71 <sup>cd</sup>	93,47±0,94 <sup>d</sup>	93,64±0,57 <sup>bc</sup>	93,68±0,65 <sup>bc</sup>
20	72,60±1,36 <sup>d</sup>	41,97±3,63 <sup>d</sup>	87,89±17,92 <sup>b</sup>	88,64±0,40 <sup>e</sup>	96,21±0,91 <sup>ab</sup>	95,20±0,64 <sup>b</sup>
25	51,02±0,10 <sup>e</sup>	32,25±2,86 <sup>e</sup>	64,96±3,31 <sup>de</sup>	84,55±1,00 <sup>f</sup>	99,18±1,04 <sup>a</sup>	98,42±0,65 <sup>a</sup>
30	28,34±0,33 <sup>f</sup>	24,05±0,43 <sup>f</sup>	57,34±5,46 <sup>ef</sup>	76,32±0,21 <sup>g</sup>	95,04±1,18 <sup>bc</sup>	91,71±0,06 <sup>c</sup>
35	21,77±0,29 <sup>g</sup>	21,67±0,17 <sup>g</sup>	54,21±6,06 <sup>f</sup>	65,15±2,31 <sup>h</sup>	93,09±1,50 <sup>bc</sup>	86,87±0,18 <sup>d</sup>
40	21,55±0,50 <sup>g</sup>	18,62±1,65 <sup>h</sup>	48,62±6,89 <sup>fg</sup>	42,51±0,00 <sup>i</sup>	82,21±3,17 <sup>d</sup>	78,57±0,22 <sup>e</sup>
45	17,33±0,17 <sup>h</sup>	22,63±0,11 <sup>fg</sup>	42,65±7,77 <sup>gh</sup>	26,56±0,66 <sup>j</sup>	69,51±5,49 <sup>e</sup>	71,67±0,55 <sup>f</sup>
50	18,13±2,77 <sup>h</sup>	20,85±0,10 <sup>g</sup>	35,41±6,45 <sup>h</sup>	19,81±0,62 <sup>k</sup>	53,17±3,71 <sup>f</sup>	59,89±1,43 <sup>g</sup>
55	17,22±1,74 <sup>h</sup>	21,67±0,05 <sup>g</sup>	35,41±6,45 <sup>h</sup>	18,40±0,63 <sup>l</sup>	44,19±0,00 <sup>g</sup>	54,26±2,28 <sup>h</sup>
60	19,79±3,73 <sup>gh</sup>	12,92±0,26 <sup>i</sup>	*	*	43,76±2,24 <sup>g</sup>	48,76±2,12 <sup>i</sup>
65	11,44±3,56 <sup>i</sup>	16,60±0,28 <sup>h</sup>	*	*	39,36±2,76 <sup>h</sup>	44,86±2,46 <sup>j</sup>
70	6,62±0,91 <sup>j</sup>	*	*	*	36,36±2,73 <sup>hi</sup>	40,43±2,49 <sup>k</sup>
75	6,45±1,21 <sup>j</sup>	*	*	*	34,17±2,21 <sup>ij</sup>	37,16±2,70 <sup>l</sup>
80	6,77±1,71 <sup>j</sup>	*	*	*	30,63±2,00 <sup>j</sup>	31,42±2,39 <sup>m</sup>

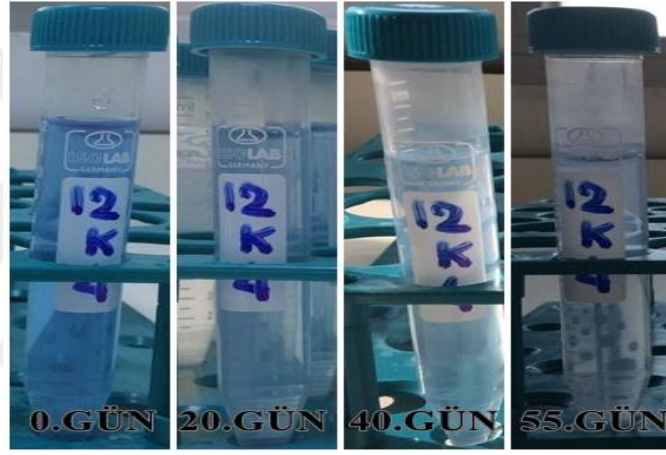
\* Mavi renk kaybolunca spekturum okuma yapılmamıştır. S.S.= Standart Sapma (±), n=3  
Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir ( $P<0,05$ )



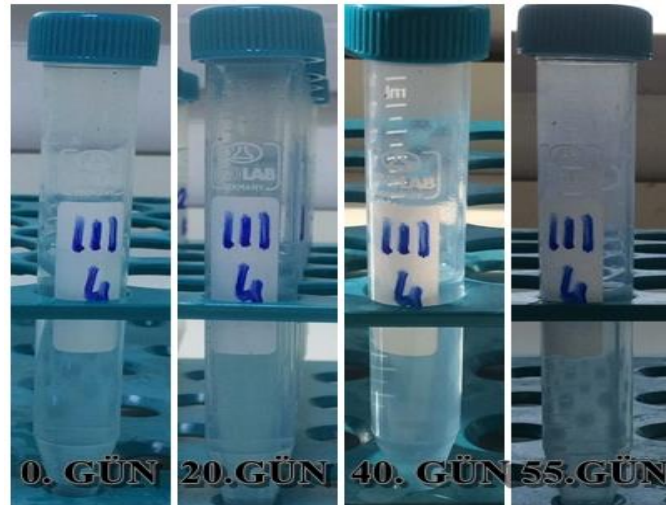
Şekil 4.1. Farklı koruyucuların +4 °C'de *A. maxima*'nın C-PC içeriği üzerine etkisi



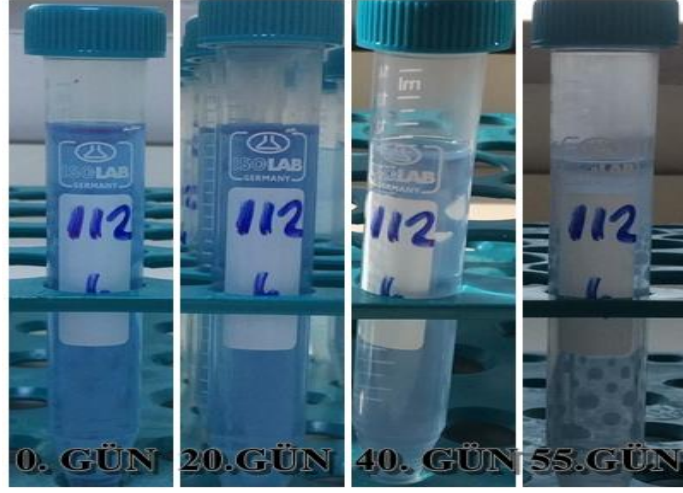
Şekil 4.2. *A. maxima*'dan özütlenen C-PC'nin +4 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Kontrol)



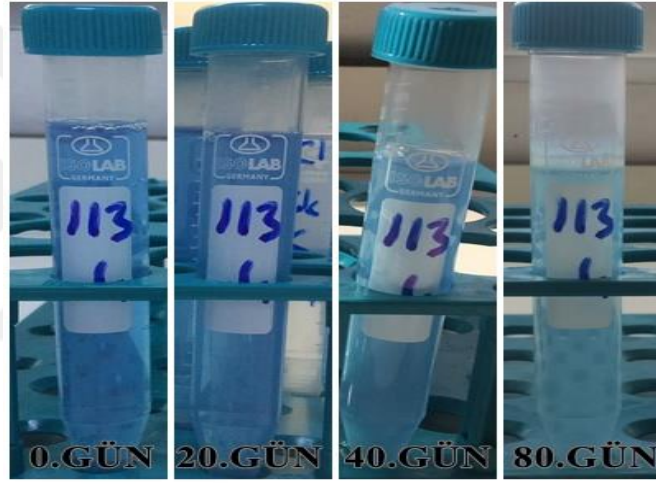
Şekil 4.3. *A. maxima*'dan özütlenen C-PC'nin +4 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Fosfat tamponu)



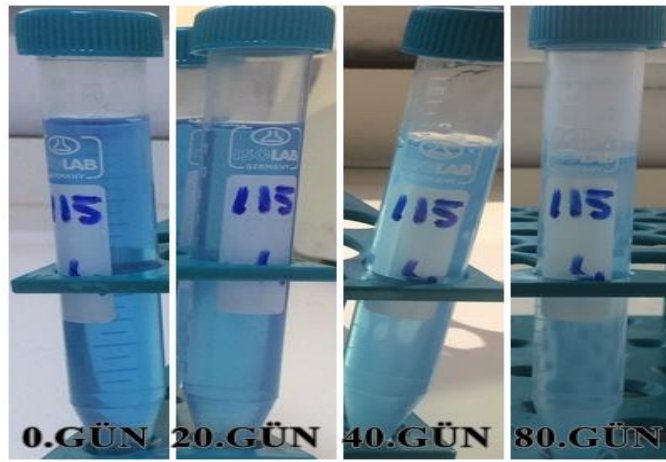
Şekil 4.4. *A. maxima*'dan özütlenen C-PC'nin +4 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Sitrik Asit)



Şekil 4.5. *A. maxima*'dan özütlenen C-PC'nin +4 °C'de depolamaya bağlı değişimi (CaCl<sub>2</sub>)



Şekil 4.6. *A. maxima*'dan özütlenen C-PC'nin +4 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Sükroz)



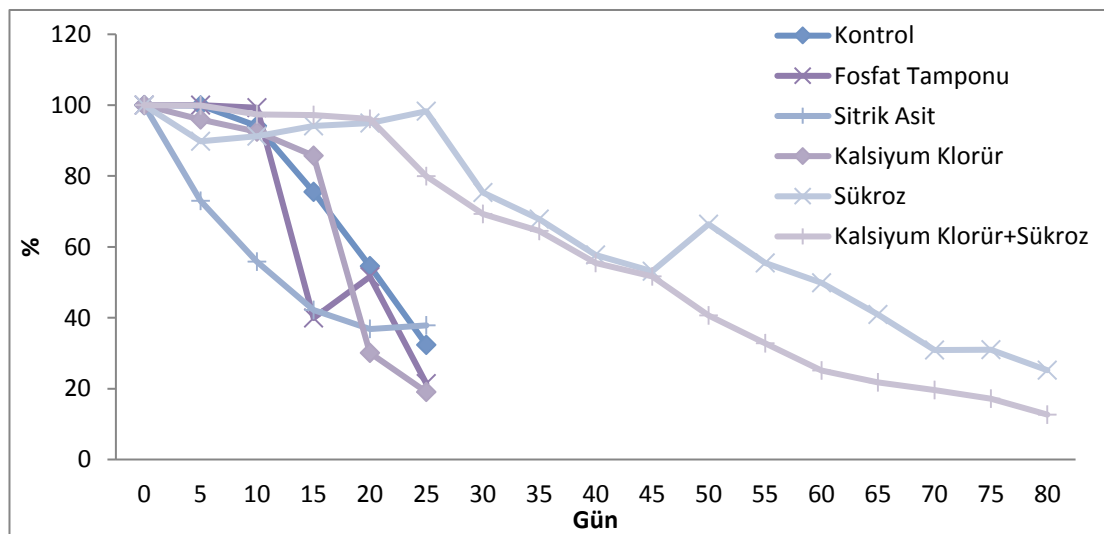
Şekil 4.7. *A. maxima*'dan özütlenen C-PC'nin +4 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Sükroz+CaCl<sub>2</sub>)

*Pseudanabaena* sp. örneklerin den elde edilen C-PC'nin farklı koruyucuların ilavesi ile + 4 °C'de depolama sonucu ortaya çıkan kayıp %40'un altına kontrol, fosfat tamponu, sitrik asit, kalsiyum klorür, sükröz ve kalsiyum klorür+sükröz gruplarında sırasıyla depolamanın 25., 25., 20., 20., 70. ve 55. günün de düştüğü belirlenmiştir. Tüm deneme grupların da depolama ilerledikçe C-PC içeriğinde istatistiki olarak önemli (P<0,05) kayıplar belirlenmiştir (Çizelge 4.4.).

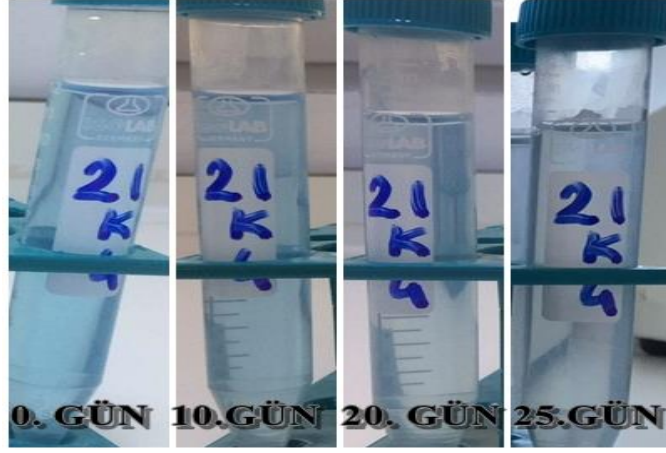
Çizelge 4.4. Farklı koruyucuların +4 °C'de *Pseudanabaena* sp.'nin C-PC içeriği üzerine etkisi

Gün	Kontrol ORT± SS	Fosfat Tam. ORT± SS	Sitrik Asit ORT± SS	CaCl <sub>2</sub> ORT± SS	Sükröz ORT± SS	CaCl <sub>2</sub> +Sükröz ORT± SS
0	100	100	100	100	100	100
5	99,89±1,10 <sup>a</sup>	99,97±1,19 <sup>a</sup>	73,00±1,65 <sup>b</sup>	95,89±2,80 <sup>b</sup>	89,82±0,01 <sup>b</sup>	99,94±2,61 <sup>a</sup>
10	94,12±0,30 <sup>b</sup>	99,30±1,20 <sup>a</sup>	55,80±0,85 <sup>c</sup>	92,49±2,63 <sup>c</sup>	91,25±0,57 <sup>ab</sup>	97,36±1,10 <sup>a</sup>
15	75,49±1,23 <sup>c</sup>	39,91±2,77 <sup>b</sup>	42,17±0,19 <sup>d</sup>	85,75±3,17 <sup>d</sup>	94,11±0,71 <sup>a</sup>	97,17±1,89 <sup>a</sup>
20	54,59±0,86 <sup>d</sup>	51,59±29,48 <sup>b</sup>	36,81±0,31 <sup>f</sup>	30,11±4,26 <sup>e</sup>	94,98±1,76 <sup>a</sup>	96,10±22,35 <sup>a</sup>
25	32,35±0,55 <sup>e</sup>	21,38±0,93 <sup>c</sup>	37,80±1,45 <sup>e</sup>	19,06±1,88 <sup>f</sup>	98,28±1,40 <sup>a</sup>	79,98±0,25 <sup>b</sup>
30	*	*	*	*	75,34±12,38 <sup>bc</sup>	69,27±1,05 <sup>c</sup>
35	*	*	*	*	67,86±21,18 <sup>cd</sup>	64,52±0,26 <sup>cd</sup>
40	*	*	*	*	57,74±21,88 <sup>cde</sup>	55,50±0,59 <sup>de</sup>
45	*	*	*	*	53,16±24,80 <sup>de</sup>	51,65±0,69 <sup>e</sup>
50	*	*	*	*	66,37± 1,45 <sup>cd</sup>	40,68± 1,66 <sup>f</sup>
55	*	*	*	*	55,42± 1,27 <sup>de</sup>	32,81± 0,99 <sup>fg</sup>
60	*	*	*	*	49,86± 0,14 <sup>de</sup>	25,10± 1,22 <sup>gh</sup>
65	*	*	*	*	40,93± 0,04 <sup>ef</sup>	21,78± 0,31 <sup>hi</sup>
70	*	*	*	*	30,85± 0,03 <sup>f</sup>	19,64± 0,34 <sup>hi</sup>
75	*	*	*	*	30,97± 0,03 <sup>f</sup>	17,14± 0,44 <sup>hi</sup>
80	*	*	*	*	25,19± 3,27 <sup>f</sup>	12,67± 0,41 <sup>i</sup>

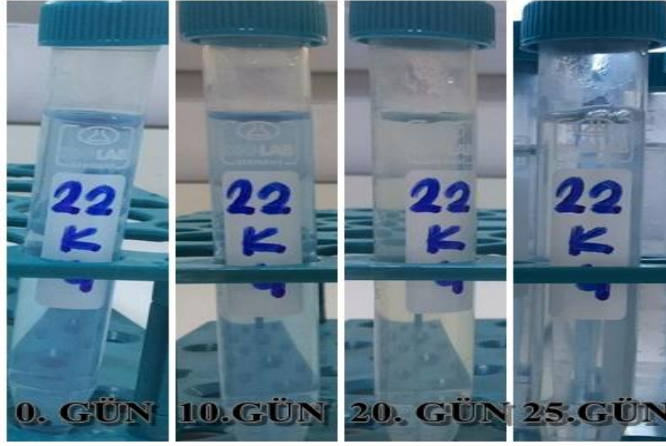
\* Mavi renk kaybolunca spekturum okuma yapılmamıştır. S.S.= Standart Sapma (±), n=3  
Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir (P<0,05)



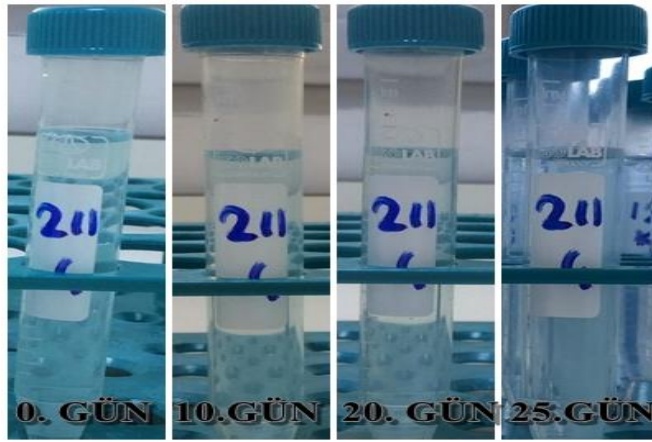
Şekil 4.8. Farklı koruyucuların +4 °C'de *Pseudanabaena* sp.'nin C-PC içeriği üzerine etkisi



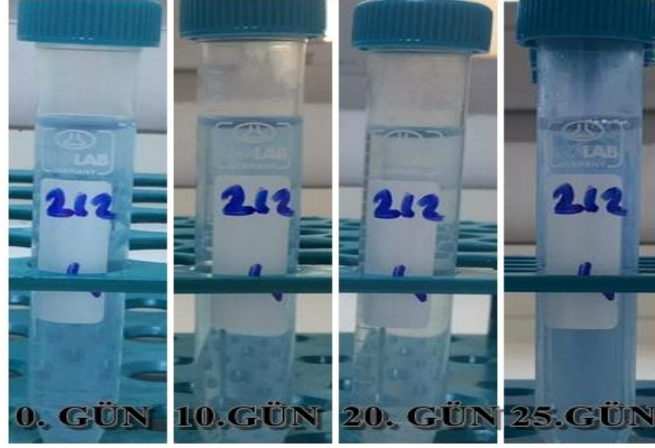
Şekil 4.9. *Pseudanabaena* sp.'dan özütlenen C-PC'nin +4 °C'de depolamaya bağlı değişimi  
(Kontrol)



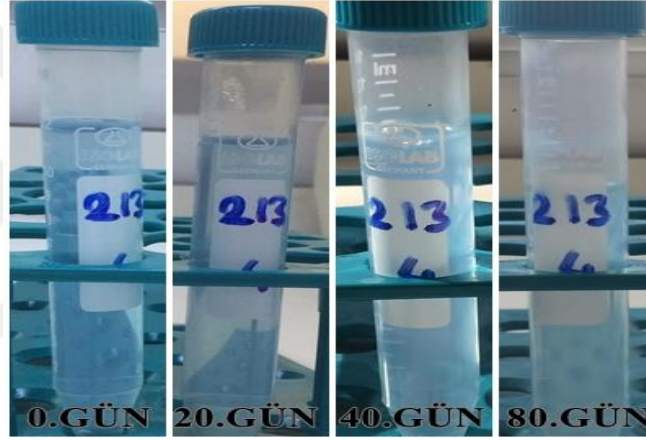
Şekil 4.10. *Pseudanabaena* sp.'dan özütlenen C-PC'nin +4 °C'de depolamaya bağlı değişimi  
(Fosfat tamponu)



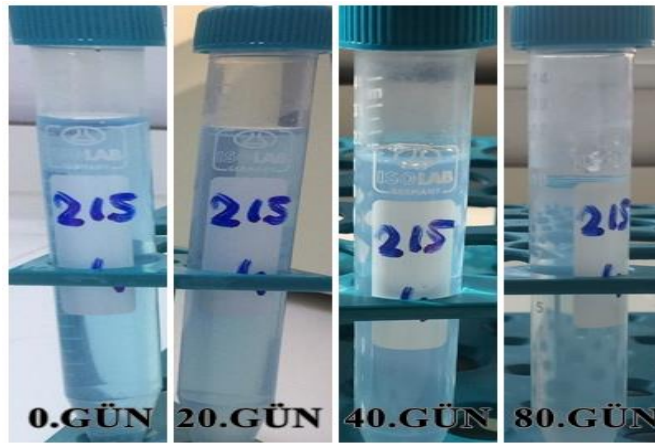
Şekil 4.11. *Pseudanabaena* sp.'dan özütlenen C-PC'nin +4 °C'de depolamaya bağlı değişimi  
(Sitrik asit)



Şekil 4.12. *Pseudanabaena* sp.'dan özütlenen C-PC'nin +4 °C'de depolamaya bağlı değişimi (CaCl<sub>2</sub>)



Şekil 4.13. *Pseudanabaena* sp.'dan özütlenen C-PC'nin +4 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Süzkroz)



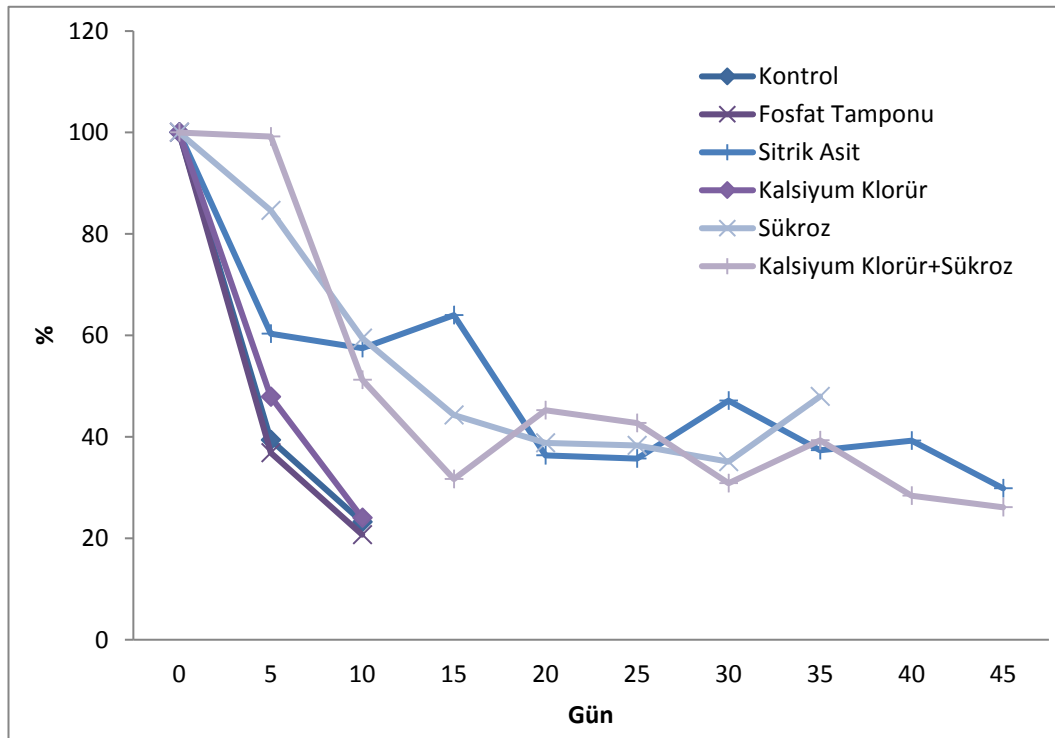
Şekil 4.14. *Pseudanabaena* sp.'dan özütlenen C-PC'nin +4 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Süzkroz+CaCl<sub>2</sub>)

*A. maxima* örneklerin den elde edilen C-PC'nin farklı koruyucuların ilavesi ile +25 °C'de depolama sonucu ortaya çıkan kayıp %40'un altına kontrol, fosfat tamponu, sitrik asit, kalsiyum klorür, sükroz ve kalsiyum klorür+sükroz gruplarında sırasıyla depolamanın 5., 5., 20., 10., 20. ve 40. günün de düştüğü belirlenmiştir. Tüm deneme grupların da depolama ilerledikçe C-PC içeriğinde istatistiki olarak önemli ( $P<0,05$ ) azalışlar belirlenmiştir (Çizelge 4.5.).

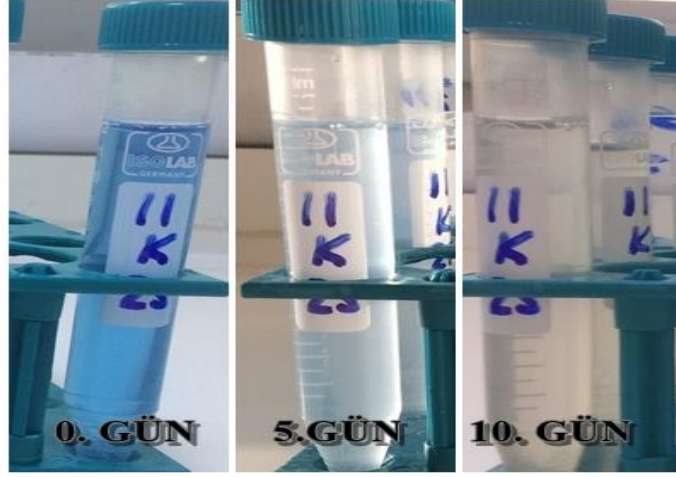
Çizelge 4.5. Farklı koruyucuların +25 °C'de *A. maxima* C-PC içeriği üzerine etkisi

Gün	Kontrol ORT± SS	Fosfat Tam. ORT± SS	Sitrik Asit ORT± SS	CaCl <sub>2</sub> ORT± SS	Sükroz ORT± SS	CaCl <sub>2</sub> +Sükroz ORT± SS
0	100	100	100	100	100	100
5	39,34±0,43 <sup>b</sup>	36,87±0,80 <sup>b</sup>	60,34±0,28 <sup>b</sup>	47,88±4,02 <sup>b</sup>	84,21±1,65 <sup>b</sup>	99,19±1,27 <sup>a</sup>
10	23,21±1,27 <sup>c</sup>	20,70±1,59 <sup>c</sup>	57,58±13,03 <sup>bc</sup>	24,02±3,22 <sup>c</sup>	59,41±5,25 <sup>c</sup>	51,24±1,67 <sup>b</sup>
15	*	*	63,97±1,41 <sup>b</sup>	*	44,29±4,14 <sup>de</sup>	31,64±1,76 <sup>cde</sup>
20	*	*	36,37±0,45 <sup>de</sup>	*	38,84±3,73 <sup>ef</sup>	45,23±13,09 <sup>bc</sup>
25	*	*	35,72±6,58 <sup>de</sup>	*	38,28±5,73 <sup>ef</sup>	42,69±12,88 <sup>bcd</sup>
30	*	*	47,16±5,68 <sup>cd</sup>	*	35,12±9,33 <sup>f</sup>	30,88±6,02 <sup>cde</sup>
35	*	*	37,43±9,86 <sup>de</sup>	*	47,95±6,85 <sup>d</sup>	39,31±15,33 <sup>bcde</sup>
40	*	*	39,25±4,86 <sup>de</sup>	*	*	28,41±4,64 <sup>de</sup>
45	*	*	29,87±4,93 <sup>e</sup>	*	*	26,11±0,05 <sup>e</sup>

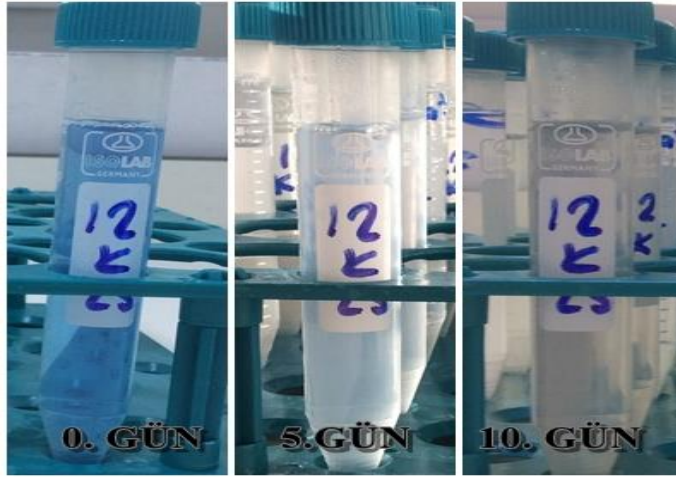
\* Mavi renk kaybolunca spekturum okuma yapılmamıştır. S.S.= Standart Sapma (±), n=3  
Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir ( $P<0,05$ )



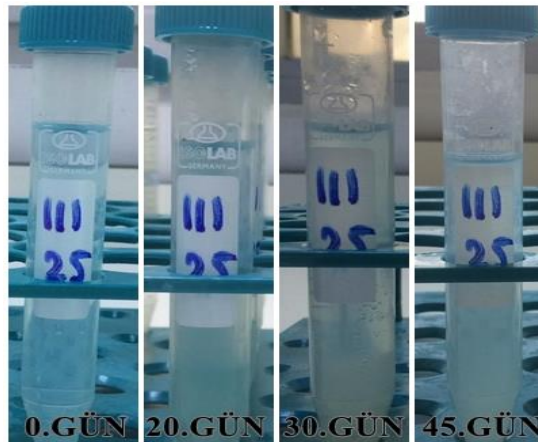
Şekil 4.15. Farklı koruyucuların +25 °C'de *A. maxima* C-PC içeriği üzerine etkisi



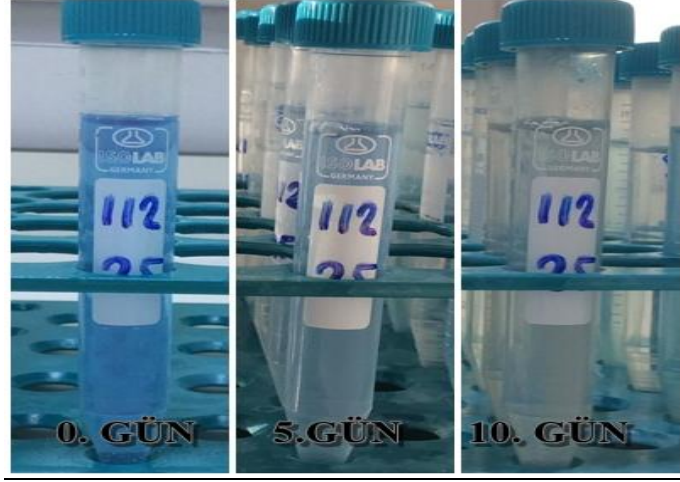
Şekil 4.16. *A. maxima*'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Kontrol)



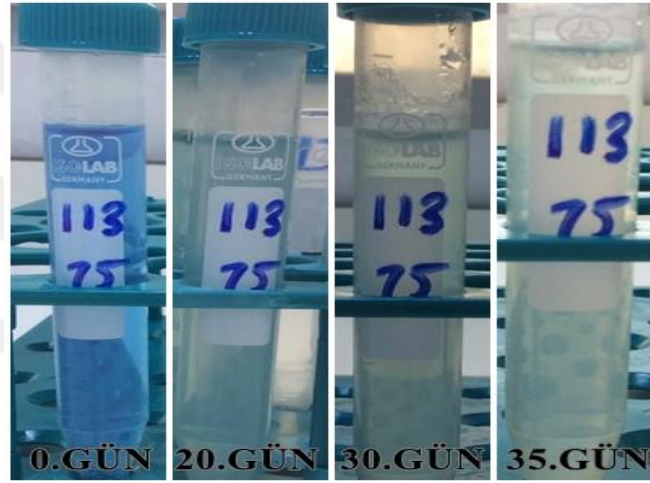
Şekil 4.17. *A. maxima*'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Fosfat Tamponu)



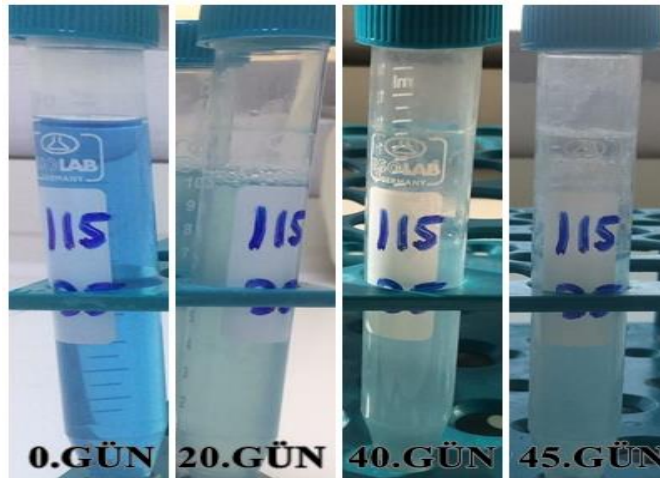
Şekil 4.18. *A. maxima*'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Sitrik asit)



Şekil 4.19. *A. maxima*'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (CaCl<sub>2</sub>)



Şekil 4.20. *A. maxima*'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Sükroz)



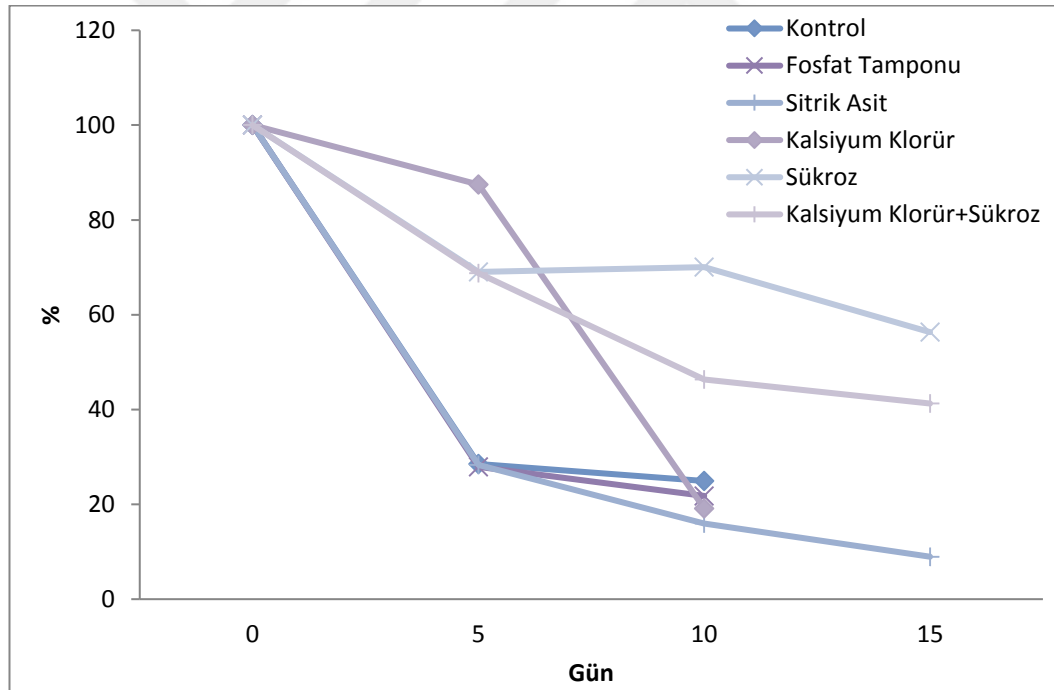
Şekil 4.21. *A. maxima*'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Sükroz+CaCl<sub>2</sub>)

*Pseudanabaena* sp. örneklerin den elde edilen C-PC'nin farklı koruyucuların ilavesi ile +25 °C'de depolama sonucu C-PC içeriğindeki kayıp %40'un altına kontrol, fosfat tamponu, sitrik asit, kalsiyum klorür, sükroz ve kalsiyum klorür+sükroz gruplarında sırasıyla depolamanın 5., 5., 5., 10., 15. ve 15. günün de düştüğü belirlenmiştir. Tüm deneme grupların da depolama ilerledikçe C-PC içeriğinde istatistiki olarak önemli ( $P<0,05$ ) azalışlar belirlenmiştir (Çizelge 4.6.).

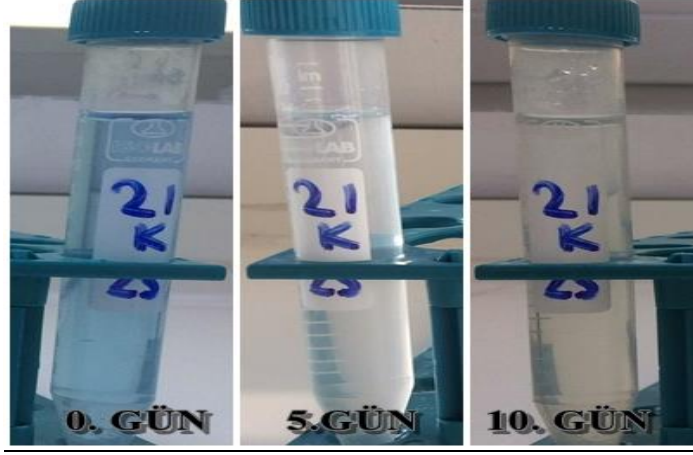
**Çizelge 4.6. Farklı koruyucuların +25 °C'de *Pseudanabaena* sp. C-PC içeriği üzerine etkisi**

Gün	Kontrol ORT± SS	Fosfat Tam. ORT± SS	Sitrik Asit ORT± SS	CaCl <sub>2</sub> ORT± SS	Sükroz ORT± SS	CaCl <sub>2</sub> + Sükroz ORT± SS
0	100	100	100	100	100	100
5	28,50±0,54 <sup>b</sup>	27,88±1,11 <sup>b</sup>	28,34±0,94 <sup>b</sup>	87,44±8,94 <sup>b</sup>	69,04±1,07 <sup>b</sup>	68,78±1,55 <sup>b</sup>
10	24,93±1,05 <sup>c</sup>	21,77±0,55 <sup>c</sup>	16,00±2,31 <sup>c</sup>	19,15±1,42 <sup>c</sup>	70,03±1,55 <sup>b</sup>	46,36±0,38 <sup>c</sup>
15	*	*	8,89±8,33 <sup>d</sup>	*	56,34±1,97 <sup>c</sup>	41,30±4,20 <sup>d</sup>

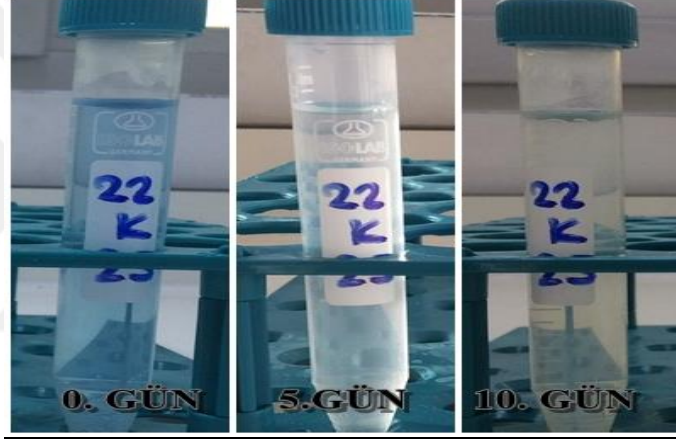
\* Mavi renk kaybolunca spekturum okuma yapılmamıştır. S.S.= Standart Sapma (±), n=3  
Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir ( $P<0,05$ )



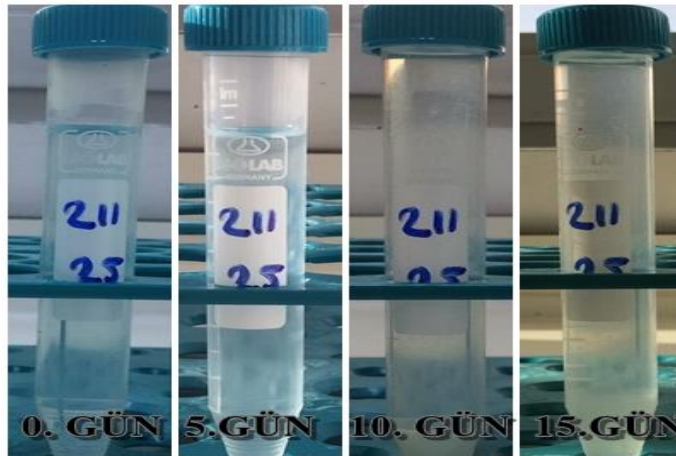
**Şekil 4.22. Farklı koruyucuların +25 °C'de *Pseudanabaena* sp. C-PC içeriği üzerine etkisi**



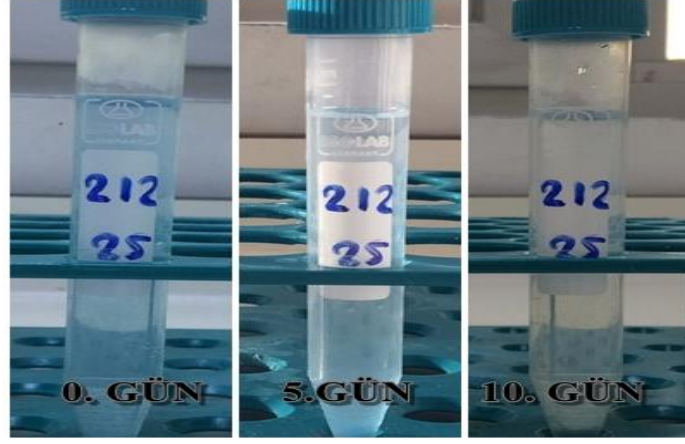
Şekil 4.23. *Pseudanabaena* sp.'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi  
(Kontrol)



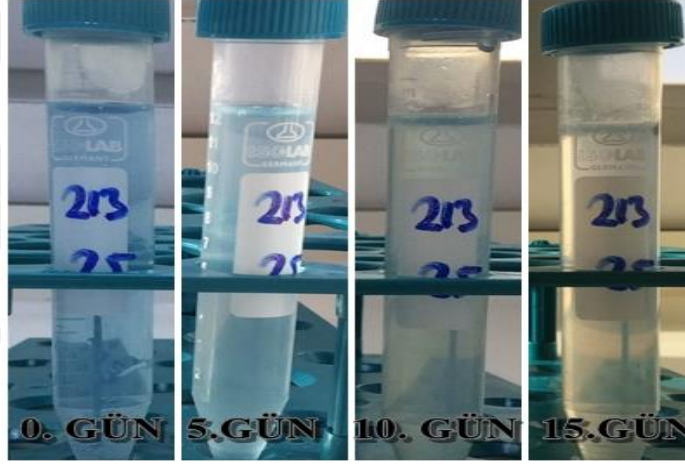
Şekil 4.24. *Pseudanabaena* sp.'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi  
(Fosfat Tamponu)



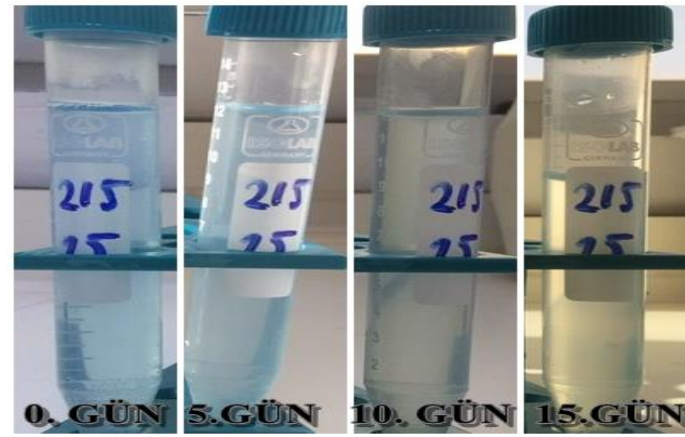
Şekil 4.25. *Pseudanabaena* sp.'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi  
(Sitrik Asit)



Şekil 4.26. *Pseudanabaena* sp.'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (CaCl<sub>2</sub>)



Şekil 4.27. *Pseudanabaena* sp.'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (Süzkroz)



Şekil 4.28. *Pseudanabaena* sp.'dan özütlenen C-PC'nin +25 °C'de depolamaya bağlı değişimi (CaCl<sub>2</sub>+Süzkroz)

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

*Pseudanabaena* sp. ve *A. maxima*'nın nem değerleri sırasıyla %6,93±0,68 ve %9,55±0,87 olarak ölçülmüştür. Liyofilize örneğin doğal olarak kurutulmuş örneğe göre nem içeriğinin önemli ( $P<0,05$ ) oranda düşük olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1.). Saf su ve fosfat tamponu kullanılarak yapılan C-PC özütleme işlemi sonucunda *Pseudanabaena* sp. örneğinde C-PC içeriği fosfat tamponundan özütlenene (0,35±0,01 mg/mL) göre saf suda özütlenen (0,29±0,01 mg/mL) önemli ( $P<0,05$ ) oranda yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.2.). *A. maxima*'dan saf su ve fosfat tamponu kullanarak yapılan C-PC özütleme işlemi sonuçlarına göre ise her iki tamponda da aynı C-PC içeriği (0,26±0,00 mg/mL) elde edilmiştir (Çizelge 4.2.). Mürşid Kovancı (2016) tarafından termal su siyanobakterisi *Pseudanabaena* sp.'den C-PC'nin özütlenmesinde farklı tamponların kullanıldığı (saf su, kalsiyum klorür, sodyum fosfat, sodyum asetat ve sodyum klorür) tez çalışmalarında başlangıçta C-PC içeriği saf su da 0,274 mg/mL ve fosfat tamponunda ise 0,116 mg/mL olarak bulunmuştur. Benzer şekilde, deniz orjinli *Pseudanabaena* sp.'den yüksek saflıkta C-PC'nin özütlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada da ham özütün PC içeriği bizim bulgularımızdan oldukça düşük olarak 0,013 mg/mL seviyesinde bulunmuştur (Mishra, Shrivastav and 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).

Çalışma sonuçlarımızdan daha düşük değerler, Tamburacı (2009) tarafından termal sulardan izole edilmiş *Pseudanabaena* sp. türünün C-PC içeriği fosfat tampon ile özütleme sonucunda ham özütte 0,150 mg/mL, liyofilize örnekte ise 0,158 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Elde edilen bulgularımızla mevcut çalışmalar arasında görülen farklılıkların sebepleri olarak özütleme şartları, yöntem farklılıkları, organizmanın üretimi sırasında uygulanan farklılıklar ve hasat yöntemindeki farklılıklardan kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir. Her iki mavi-yeşil algin PC içeriği üzerine saf su ve fosfat tamponun etkisinin belirlenmesi için yapılan çalışmamız da, saf su tamponu ile *Pseudanabaena* sp.'den özütlenen C-PC'nin verimi 14,36±0,42(mg/g) iken 10K ve 50K Amicon Ultra Santrifüj ile santrifüjleme

sonrası istatistiki olarak önemli olmayan ( $P>0,05$ ) artışlarla  $16,34\pm 2,13$  (mg/g) ve  $14,39\pm 2,52$ (mg/g)'a yükselmiştir (Çizelge 4.2.). Fosfat tamponunda ise verim  $17,78\pm 0,35$ (mg/g) iken 10K ve 50K Amicon Ultra Santrifüj ile santrifüjleme sonrası istatistiki olarak önemli ( $P<0,05$ ) azalışlarla  $10,64\pm 5,52$  (mg/g) ve  $7,54\pm 1,55$ (mg/g)'a düştüğü tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.). Moraes vd., (2011) tarafından *S. platenses*'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. Akoğlu (2012) tarafından yapılan çalışmanın ilk aşamasında çeşitli siyanobakteri suşları fikosiyanın verimleri açısından karşılaştırılmış ve *Anabaena affinis* suşu 110 mg/g fikosiyanın miktarı ile en verimli suş olarak belirlenmiştir. Kovancı (2016) tarafından *Pseudanabaena* sp.'nin PC içeriğine yönelik yaptığı çalışmada ise maksimum verim 180. dk'da saf su ile özütlenen örneklerde 86,314 mg/g olarak bulunmuştur. Demirel vd., (2012) tarafından *Oscillatoria amphibia* ve *S. platensis*'in PC içeriği üzerine yapılan çalışmada, 25 kat 0,15 M NaCl ise çözündürülmüş liyofilize örnekler dondurulmuş, 1 saat ultrasonik banyoda çözündürüldükten sonra 1 gece  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de bekletilmiştir. Örneklerin C-PC içeriği sırasıyla 140 mg/mL ve 71,35 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Ekstraksiyonun başlangıcından saflaştırmanın sonuna kadar geçen süredeki tüm veriler değerlendirildiğinde, 40 mL örnekten (0,68 mg/mL kuru ağırlık) 0,66 mg saf fikosiyanın elde edildiği diğer bir ifade ile 1 g kuru hücreden 24,44 mg saf fikosiyanın elde edildiği belirlenmiştir. Soni vd., (2006) yaptıkları saflaştırma çalışmasında 1 g kuru hücreden 2 mg saf fikosiyanın elde edebilmişlerdir. Bu sonuçlar gerek suş seçimi, gerek ekstraksiyon yöntemi ve şartlarında yapılan değişiklikler, gerek kültürün gelişme koşullarında yapılan değişiklikler ve gerekse saflaştırma işleminde yapılan optimizasyon çalışmasının fikosiyanın verimini artırmada başarıyla sonuçlandığını göstermektedir. Elde edilen bulgular, bugüne kadar yapılan saflaştırma çalışmalarından elde edilen bulguların birçoğu ile benzerlik göstermektedir. C-PC'nin özütlenmesi işlemi sırasında saflık derecesi 620 nm'deki absorbans değerinin 280 nm'deki absorbans değerine oranı ( $A_{620}/A_{280}$ ) ile tespit edilmektedir. Elde edilen bu saflık oranına göre fikosiyanın kullanım alanı belirlenmektedir. Fikosiyanın, saflık oranı 0,7 ve üstünde ise gıdaya uygun saflıkta, 3,9 ise reaktif saflıkta, 4 ve üzerinde ise analitik saflıkta olarak kabul edilmektedir (Rito-Palomares vd., 2001). Bugün saflığı 0,7 olan fikosiyanın mg fiyatı yaklaşık

0,13 dolar iken saflığı 4 ve üzerinde olan analitik kullanıma uygun fikosiyaninin mg fiyatı 15 dolar'ın üstündedir (Rito-Palamares vd., 2001, Niu vd., 2006). Bu durum araştırmacıları daha az maliyette, daha kısa sürede, daha yüksek verimde ve saflıkta fikosiyanin elde etmeye teşvik etmektedir. Bu amaçla çalışmada çeşitli saflaştırma tekniklerinin birbiri ile kombinasyonları denenerek en uygun saflaştırma yöntemi belirlenmeye çalışılmaktadır. Çalışmamızda, *Pseudanabaena* sp.'den saf su ile özütlenen C-PC'ninin saflığı, fosfat tamponundan özütlenene göre önemli ( $P<0,05$ ) oranda yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.2.). C-PC'ninin saflığını artırmak için uygulanan 10K Amicon Ultra Santrifüj işlemi sonrası saflık değerinin sırasıyla  $1,60\pm 0,09$  ve  $1,22\pm 0,18$ 'ye önemli ( $P<0,05$ ) oranda yükseldiği tespit edilmiştir. 50K Amicon Ultra Santrifüj işlemi sonrası ise daha düşük saflık değerleri bulunmuştur (Çizelge 4.2.). *A. maxima*'dan elde edilen C-PC içeriğinin saflığını artırmak için yapılan ultra santrifüj işlemi sonucunda ise benzer şekilde yüksek saflık dereceleri 10K Amicon Ultra Santrifüj ile yapılan işlem sonucunda elde edilmiştir (Çizelge 4.2.). Sonuç olarak tüm deneme gruplarında elde edilen C-PC'nin saflık değeri 1,05 ile 1,60 arasında değişmekte olup gıdaya uygun saflıkta C-PC üretiminin gerçekleştirildiği söylenebilmektedir.

Mevcut çalışma ile *Pseudanabaena* sp. ve *A. maxima* örneklerinden özütlenen C-PC'nin farklı gıda sınıfı koruyucular (Sitrik Asit, Kalsiyum Klorür, Sükroz ve Kalsiyum Klorür+Sükroz) varlığında farklı sıcaklıklardaki ( $+4^{\circ}\text{C}$  ve  $+25^{\circ}\text{C}$ ) stabilitesi belirlenmiştir (Çizelge 4.3., Çizelge 4.4., Çizelge 4.5., ve Çizelge 4.6.). *A. maxima*'dan elde edilen C-PC'nin farklı koruyucularla  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de depolanması sonucu C-PC içeriğinde önemli ( $P<0,05$ ) kayıplar ortaya çıkmıştır (Şekil 4.1.). Kontrol, fosfat tamponu, sitrik asit,  $\text{CaCl}_2$ , Sükroz ve  $\text{CaCl}_2$ +Sükroz ilave edilmiş gruplarda C-PC içeriğindeki kayıplar %40'ın altına sırasıyla 30., 25., 50., 45., 65. ve 75. günde düşmüştür (Çizelge 4.3.). Benzer şekilde *Pseudanabaena* sp.'den elde edilen C-PC'nin farklı koruyucularla  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de depolanması sonucu C-PC içeriğinde de önemli ( $P<0,05$ ) kayıplar ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.4.). C-PC içeriğindeki kayıplar %40'ın altına sırasıyla 25., 25., 20., 15., 70. ve 55. günde düşmüştür (Çizelge 4.4.). Sonuç olarak  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de depolanması sonucu en iyi koruyuculuk her iki tür de  $\text{CaCl}_2$ +sükroz ve sükroz gruplarında tespit edilmiştir.

*A. maxima*'dan elde edilen C-PC'nin farklı koruyucularla  $+25^{\circ}\text{C}$ 'de depolanması sonucu C-PC içeriğinde önemli ( $P<0,05$ ) kayıplar ortaya çıkmıştır (Şekil 4.15.).

Kontrol, Fosfat tamponu, Sitrik asit, CaCl<sub>2</sub>, Sükröz ve CaCl<sub>2</sub>+Sükröz ilave edilmiş gruplarda C-PC içeriğindeki kayıplar %40'ın altına sırasıyla 5., 5., 20., 10., 15. ve 25. günde düşmüştür (Çizelge 4.5.). Benzer şekilde *Pseudanabaena* sp.'den elde edilen C-PC'nin farklı koruyucularla +25 °C'de depolanması sonucu C-PC içeriğinde de önemli (P<0,05) kayıplar ortaya çıkmıştır (Şekil 4.22.). C-PC içeriğindeki kayıplar %40'ın altına sırasıyla 5., 5., 5., 10., 20. ve 20. günde düşmüştür (Çizelge 4.6.). Sonuç olarak +25 °C'de depolanması sonucu en iyi koruyuculuk her iki tür de CaCl<sub>2</sub>+Sükröz ve Sükröz gruplarında tespit edilmiştir.

C-PC stabilitesini etkileyen ana parametreler pH, sıcaklık ve ışıktır (Jaeschke vd., 2021). Sarada vd., (1999) yaptıkları çalışmada C-PC'nin 5 ile 7,5 arasında değişen pH'da heksamerik formun baskın olması nedeniyle daha kararlı olduğu bildirilmiştir. C-PC kararlılığı üzerine diğer kritik faktör sıcaklıktır. Sıcaklığın 50 °C'nin üzerine çıktığı durumlarda C-PC bozunma oranları artmaktadır. Chaiklahan vd., (2012) C-PC'nin bozunma oranının 26°C - 43°C'de (pH 5-7) aralığında daha düşük olduğunu ve pigmentlerin 47°C'den 64 °C'ye ısıtıldığında bozulma oranının arttığını bildirmiştir. (Chaiklahan vd., 2012). Gıda formülasyonlarında C-PC uygulaması asitlere, ısıya ve ışığa duyarlılığı nedeniyle sınırlıdır. Bu problemlerin üstesinden gelmek ve C-PC molekülünü korumak için stabilize edici ajanlar kullanılmaktadır. Bunlar arasında, küçük sakkaritler, proteinin doğal yapısını ve C-PC rengini koruyarak pozitif bir katkı göstermektedir. Şekerler, protein-çözücü etkileşimlerinin modifikasyonlarını teşvik ederek, sistemin serbest enerjisini arttırarak ve protein katlanma durumunu destekleyerek yardımcı madde görevi görmektedirler (Faieta vd., 2020). Şeker tipi ve konsantrasyon C-PC stabilitesini etkiler. C-PC ekstraktlarının stabilitesini uzatmak için sükröz (%20, w/w) ve glukoz (%20, w/w) ilavesinin uygun olduğu düşünülmektedir (Stanic-Vucinic vd., 2018). Sükröz (%20, w/w) aynı konsantrasyonda trehalozdan daha olumlu bir etkiye sahip olduğu, farklı sakaroz konsantrasyonlarını karşılaştırırken, %70'i %20'den daha iyi bir koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Faieta vd., 2020).

Şekerlerin yanı sıra sodyum azid ve ditiyotreitöl gibi koruyucular da analitik kullanımlar için C-PC stabilize edici ajanlar olarak kullanılmaktadır. Ancak bu bileşikler toksiktir ve gıda veya farmasötik uygulamalar için uygun değildir (Mishra, vd., 2008). İlave olarak, protein çapraz bağlama ajanları olan formaldehit ve glutaraldehit de C-PC stabilitesinin korunması için kullanılmaktadır. Çapraz

bağlayıcılar, polimer zincirleri ve proteinler arasında ağlar oluşturarak alt birimlerde protein ayrışmasını önleyebilmektedir. Bazı olumlu sonuçlar sunmasına rağmen bu bileşiklerin çoğu toksiktir ve gıda uygulamalarında kullanılmayabilirler (Sun vd., 2006). Son zamanlarda, doğal polimerler C-PC koruması için değerlendirilmiştir. Pek çok yazar, gıda işleme koşulları altında düşük pH değerlerinde C-PC yapısını korumak için proteinlerin kullanılmasını önermişlerdir. Çalışılan bu bileşikler arasında peynir altı suyu proteininin düşük pH değerlerinde (3-7), yüksek sıcaklıkta (80 °C) ve yüksek basınç koşullarında mavi renk stabilitesine katkıda bulunduğu görülmüştür (Panutai, vd., 2018; Zhang vd., 2020). Bununla birlikte, bu bileşiklerin farklı işleme koşulları altında C-PC yapısı üzerindeki etkisini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır (Jaeschke vd., 2019).

Wu vd., (2016) tarafından *S. platensis*'ten elde edilen gıda sınıfı fikosiyanın üzerine yenilebilir koruyucuların (sükroz, glukoz, sodyum klorid), pH ve sıcaklığın etkilerinin spektrofotometrik yöntemle belirledikleri çalışmalarında bizim bulgularımıza uyumlu şekilde gıda sınıfı fikosiyanın stabilitesini korumak için en uygun koşulların pH 5.0-6.0, düşük sıcaklık, karanlık ve yenilebilir stabilize edici ajanların eklenmesi olduğunu bildirmiştir.

Kannaujiya ve Sinha (2016) tarafından gıda sınıfı koruyucuların fikosiyanın (PC) ve fikoeritrin (PE) üzerine termokinetik etkilerini belirledikleri çalışmalarında saflaştırılmış PC ve PE'nin termokinetik stabilitesi, +4, +25 ve +40 °C'de 30 günlük inkübasyon boyunca benzoik asit, sitrik asit, sakaroz, askorbik asit ve kalsiyum klorür gibi yenilebilir koruyucuların varlığında incelenmiştir. Bulgularımızla uyumlu şekilde PC/PE'nin bozunma hızı kontrol grubunda (koruyucu ilave edilmeyen) artarken, koruyucuların ilave edildiği gruplarda azaldığı belirlenmiştir. Bozulma hızı en düşük 4 °C'de inkübasyon sonucu tespit edilmiştir. Sitrik asit ve sukrozun aynı sıcaklıkta hem PC hem de PE'nin stabilitesini koruduğu saptanmıştır. Kalsiyum klorür ve askorbik asit, çalışılan diğer koruyuculara kıyasla PC ve PE'nin en az stabilitesini destekleyen koruyucular olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, benzoik asidin 4 °C'de hem PC hem de PE için en iyi koruyucu olduğu bulunmuştur (Kannaujiya ve Sinha 2016). Bu sonuçlar bulgularımızı destekler niteliktedir.

Bhattacharya vd., (2018) tarafından doğal koruyucu  $\epsilon$ -Polylisin ve kimyasal koruyucu sitrik asidin  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de C-PC ve C-PE'nin stabilitesi üzerindeki etkisi inceledikleri çalışmalarında 8 günlük depolama sonucunda PC ve PE'de renk ve

pH'da sitrik aside göre %0,02  $\epsilon$ -polilisin (w/v) nin daha iyi olduğu bildirmişlerdir.  $\epsilon$ -polilisin içeren solüsyonda C-PC ve C-PE miktarı sırasıyla %90,5 ve %95,24 oranında korunduğu belirlenmiştir. Bu sonuca göre kimyasal veya sentetik koruyucuların doğal koruyucu  $\epsilon$ -polilisin ile değiştirilmesi gerektiği, çünkü bu kimyasal veya sentetik koruyucuların uzun süreli tüketimi sağlığa zararlı olduğu, mevcut çalışma ile kimyasal veya sentetik koruyucuların doğal koruyucu olarak  $\epsilon$ -polilisin ile değiştirilmesi için etkili bir seçenek sunduğu bildirilmiştir (Bhattacharya vd., 2018).

Safari vd., (2018) tarafından *S. Platensis*'ten özütlenen fikosiyanınin stabilitesi üzerine sıcaklık, süre ve pH'nın etkileri çalışılmıştır. Fikosiyanınin stabilitesi, sıcaklık (-18, +4 ve +10°C), pH (4.5, 5.5 ve 7) ve süre (15, 30 ve 45 gün) olmak üzere üç faktöre dayalı tamamen rastgele bir tasarımda bölünmüş faktöriyel deney ile belirlenmiştir. Sonuçlar, çeşitli sıcaklıklarda depolama süresinin artmasıyla fikosiyanınin stabilitesinin nispeten azaldığını göstermiştir. Bununla birlikte, fikosiyanınin en yüksek stabilitesi, -18°C'de ve ardından +4°C'de gözlenmiştir. Depolama sıcaklığının +10°C'ye yükseltilmesiyle, özellikle 5.5'lik bir pH'da fikosiyanınin stabilitesi büyük ölçüde azaldığı ve absorbansın 30 günde sıfıra düştüğü tespit edilmiştir. Fikosiyanınin minimum konsantrasyon kaybı için en iyi koşullar, -18 °C'de 4,5 pH'da ve 30 günlük depolama süresinde olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, süt ürünleri ve dondurma gibi soğuk veya dondurucu sıcaklıklarda saklanan gıda ürünlerinde fikosiyanınin kullanmak mümkün olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Safari vd., 2018). Bu çalışma sonuçlarında bulgularımızı destekler niteliktedir.

Bulgularımızı destekler nitelikte, Khandual, vd., (2021) tarafından *Arthrospira platensis*'den fikosiyanınin özütlenmesi ve stabilitesi üzerine yaptıkları çalışmalarında fikosiyanınin stabilitesi en iyi pH 7'de, -20 °C'de 35 gün depolama sonucu elde edildiği bildirilmiştir.

### **Sonuç olarak;**

- *Pseudanabaena* sp. ve *A. maxima*' nin önemli C-PC kaynağı oldukları,
- Her iki türden C-PC'nin özütlenmesinde saf su ve fosfat tamponunun kullanılabileceği,

- C-PC'nin saflık değeri onun kullanım alanını belirlediği, yüksek saflık isteniyorsa özellikle 10K Amikon ultra santifüj işlemleri ile saflığın önemli derece artırılabilceği,
- C-PC'nin stabilitesini etkileyen ana parametrelerin pH, sıcaklık ve ışık olduğu,
- C-PC'nin gıda işleme proseslerinde ısıya maruz kaldığında önemli kayıplar olduğu, bu kayıpların önlenmesinde gıda sınıfı koruyucuların kullanılması gerektiği,
- Her iki türden elde edilen C-PC'nin de +4 ve +25 °C'de depolama sırasında en iyi kuruyucunun CaCl<sub>2</sub> + Sükroz ve sükroz olduğu,
- Ülkemizde mikroalglerden C-PC üretimine yönelik sınırlı sayıda çalışma bulunması, *Pseudanabaena* sp. gibi yerel bir suştan elde edilen fikosiyanın ve fikosiyanin kullanımı ile elde edilecek yeni ürünlerin önemini artırdığı,
- Sanayi ve Teknoloji Bakanlığının fasıllara göre düzenlenen TÜİK ([www.tuik.gov.tr](http://www.tuik.gov.tr)) ithalat verilerine göre; organik kimyasal ürünler, eczacılık ürünleri, uçucu yağlar ve rezinoitler, parfümeri, kozmetik ürünleri için 2000 yılında 3.342,989 milyon dolarlık ithalat yapılmışken, 2020 yılında 12.007.154 milyon dolara yükselmiştir. Bu rakam 2017 yılı için toplam %4,72' sinden 2018 yılında %18,66 ya yükselmiştir ve 2020 yılında %5,47 seviyelerinde kalmıştır. Son olarak Mart 2021 verilerine göre 3.862.364 milyon dolar olduğu görülmüş ve günümüzde yaşanan Covid-19 salgınına rağmen ithalatımızda %6,32'lik büyük bir bölümü oluşturmaktadır. C-PC gıda, ilaç, tekstil ve kozmetik sanayisinde kullanım olağı olan doğal pigment proteğinidir. Bu ve bunun gibi çalışmalar başarılı bir şekilde sonuçlanıp sanayiye aktarılabilceği takdirde belirtilen alanlardaki aramalı ithalatımızı azaltılabilecek ve böylece cari açık azaltılarak ülke ekonomisine önemli katkılar sağlayabilceği tarafımızdan düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Acinas, S.G., Haverkamp, T.H.A., Huisman, J., Stal, L.J. (2009) 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.
- Aishvarya V., Pradhan N., Nayak R.R., Sukla L.B., Mishra B.K. (2012) Enhanced inorganic carbon uptake by *Chlorella* sp. IMMTCC-2 under autotrophic conditions for lipid production and CO<sub>2</sub> sequestration, *Journal of Applied Phycology*, 24(6) : 1455-1463. <https://doi:10.1007/s10811-012-9801-9>
- Akoğlu, A. (2012) *Siyanobakteriden Elde Edilen Fikosiyaninin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 120s.
- Akoğlu, A. ve akmakçı, M.L. (2011) Siyanobakterilerden Elde Edilen Fikosiyaninin Kullanım Alanları, *Su Ürünleri Dergisi*, 28(4):137-141.
- Anonim, *Merck Millipore Laboratuvar El Kitabı*, (Ed: Zencir, Y.), 2011, Ekim, II. Baskı.
- Bat, L., Sezgin, M., Aydın, A., Şahin, F., Koç, Y., Sönmez, E., Akbulut, B. (2014) *Sinop Üniversitesi Su Ürünleri Temel Bilimler Sözlüğü*, Sinop, 178s.
- Benedetti, S., Rinalducci, S., Benvenuti, F., Francogli, S., Pagliarani, S., Giorgi, L., Micheloni, M., D'Amici, G.M., Zolla, L. and Canestrari, F. (2006) Purification and Characterization of Phycocyanin from the Blue-green Alga *Aphanizomenon Flos- aquae*, *Journal of Chromatographic B*, 833: 12-18.
- Bennett, A. and Bogorad, L. (1973) Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga, *The Journal of Cell Biology*, 58: 419-435.

- Bergey, D.H., Holt, J.G. (1994) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Lippincott Williams & Wilkins, 397s.
- Bermejo, R., Felipe, M.A., Talavera, E.M., Alvarez-Pez, J.M. (2006) Expanded bed adsorption chromatography for recovery of phycocyanins from the microalga *Spirulina platensis*, *Chromatographia*, 63: 59-66.
- Bhattacharya, S., Bhayani, K., Ghosh, T., Bajaj, S., Trivedi, N., Mishra, S. (2018) Stability of Phycobiliproteins Using Natural Preservative  $\epsilon$ -Polylysine ( $\epsilon$ -PL). *Journal of Fermentation*, 7(1). <https://doi.org/10.4172/2167-7972.1000149>
- Borowitzka, M.A. (2018) Biology of microalgae, *Microalgae Health and Disease Prevention*: 23-72. <https://doi:10.1016/B978-0-12-811405-6.00003-7>
- Borowitzka, M.A. (2018) Microalgae in Medicine and Human Health: A Historical Perspective. *Microalgae Health and Disease Prevention first edition*. Academic Press. : 195-210. <https://doi:10.1016/B978-0-12-811405-6.00009-8>
- Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J. (1988) *Vitamins and fine chemicals from microalgae*, Micro-Algal Biotechnology, Cambridge University Pres, U.K.: 153-196.
- Bryant, D. (1982) Phycoerythrocyanin and Phycoerythrin: Properties and Occurrence in *Cyanobacteria*, *Journal of General Microbiology*, 128: 835-844. <https://doi:10.1099/00221287-128-4-835>
- Canto de Loura, I., Dubacq, J.P., Thomas, J.C. (1987) The Effects of Nitrogen Deficiency on Pigments and Lipids of *Cyanobacteria*, *Plant Physiology*, 83: 838-843.
- Castenholz, R.W., Phylum, B.X. (2001) Cyanobacteria, Oxygenic Photosynthetic Bacteria - In: Boone D.R. Castenholz R.W. (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1/ Springer-Verlag, 721s.
- Chaiklahan, R., Chirasuwan, N., Bunnag, B. (2012) Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina* sp.: Influence of temperature, pH and preservatives, *Process Biochemistry*, 47(4) : 659-664. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2012.01.010>

- Chamorro-Cevallos, G., Garduno-Siciliano, L., Martínez-Galero, E., Mojica-Villegas, A., Pages, N., Gutiérrez-Salmeán, G. (2014) The protective effect of dietary *Arthrospira (Spirulina) maxima* against mutagenicity induced by benzo [alpha] pyrene in mice. *Journal of Medicinal Food*, 17: 527-534  
<https://doi.org/10.1089/jmf.2013.0109>
- Chen, F., Zhang, Y. (1997) High Cell Density Mixotrophic Culture of *Spirulina platensis* on Glucose for Phycocyanin Production Using a Fed-Batch System, *Enzyme and Microbial Technology*, 20: 221-224.  
[https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(96\)00116-0](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(96)00116-0)
- Cirik, Ş., Cirik, S. (2004) *Su Bitkileri, Deniz Bitkilerinin Biyolojisi, Ekolojisi, Yetiştirme Teknikleri*, 2004, İzmir, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, 34-38s.
- Cirik, S., ve Gökpınar, Ş. (2006) *Pseudanabaena (Oscillatoriaceae), Plankton Bilgisi ve Kültürü*, 4.Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 63s.
- Cirik, S., Ak, İ., Cirik, Y. (2008) Allianoı (Bergama, İzmir, Türkiye) Termal Sularının Mikroalgleri, *III. Ulusal Limnoloji Sempozyumu*, İzmir, 85.
- Cohen, Z. (1997) The chemicals of *Spirulina*. In: *Vonshak, A., Ed. Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology*. Taylor and Francis, London : 175-204.
- Contreras-Martel, C. Matamala, A. Bruna, C. Poo-Caamaño, G. Almonacid, D., Figueroa, M. Martínez-Oyanedel & J. Bunster M., (2007) The structure at 2 Å resolution of phycocyanin from *Gracilaria chilensis* and the energy transfer network in a PC-PC complex, *Biophysical Chemistry*, 125: 388-396.  
<https://doi.org/10.1016/j.bpc.2006.09.014>
- Çelikel, N. Kınık, Ö. Gönç, S. Kavas, G. (2006) Mikro alglerin Gıdalarda Renk Verici Madde (Pigment) Kaynağı Olarak Kullanımı, *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, Bolu: 447-450.
- Dalay, C., M. (2008) *Su Ürünleri Dergisi*, Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir, Türkiye: 241- 245.  
<https://app.trdizin.gov.tr/dergi/TWpBNE9BPT0/su-urunleri-dergisi>

- Demirel, Z., Hatipoğlu, S.U., Nalbantsoy, A., Yılmaz, F.F., Erbaykent, B.T., Deliloğlu, İ.G., Dalay, M.C. (2012) A comparative study on antioxidant and cytotoxic effects of *Oscillatoria amphibia* and *Spirulina platensis* C-phycoocyanin and crude extracts, *Ege J Fish Aqua Sci.*, 29(1): 1-7.
- Duru, M.D., Yılmaz, H.K. (2013) Mikro alglerin Pigment Kaynağı Olarak Balık Yemlerinde Kullanımı, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6 (2): 112-118.
- Erdal, P., 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. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1542-y>
- Eriksen, N.T., Schmidt, R.A., Wiebe, M.G. (2005) Heterotrophic high cell-density fed-batch cultures of the phycocyanin-producing red alga *Galdieria sulphuraria*. *Biotechnology and Bioengineering*, 90: 77-84. <https://doi.org/10.1002/bit.20417>
- Faieta, M., Neri, L., Sacchetti, G., Di Michele, A., & Pittia, P., (2020) Role of saccharides on thermal stability of phycocyanin in aqueous solutions, *Food Research International*, 132, June 2020, 109093. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109093>
- Finamore, A., Palmery, M., Bensehaila, S. Peluso, I. (2017) Anti-oxidant, immunomodulating and microbial-modulating activities of the sustainable and ecofriendly *Spirulina*, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* :1-14. <https://doi.org/10.1155/2017/3247528>
- Furmaniak, Magda, A., Misztak, Agnieszka, E., Franczuk, Martyna D., Waleron, Małgorzata, Waleron, Krzysztof, F., (2017) Edible Cyanobacterial Genus *Arthrospira*: Actual State of the Art in Cultivation Methods, Genetics, and Application in Medicine, *Frontiers in Microbiology*, 8: 7-9 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02541>
- Gantar, M., Simović, D., Djilas, S., Gonzalez, W.W., and Miksovská, J. (2012) Isolation, characterization and antioxidative activity of C- phycocyanin from *Limnothrix* sp., *Journal of Biotechnology*, 159(1-2): 21–26. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.02.004>

- Gardner, N.L. (1917) New Pacific coast marine algae, *I. University of California Publications in Botany*, 6: 377–416.
- Ghosh T, Paliwal C, Maurya R, Mishra S. (2015) Microalgal rainbow colours for nutraceutical and pharmaceutical applications, *Plant biology and biotechnology*, Springer, New Delhi, 1: 777–791.
- Graham, L.E., Graham, J.M., Wilcox, L.W. (2004) Bitki Biyolojisi (Plant Biology), Çeviri Editörü: Işık, K., *Palme Yayıncılık*, Ankara,
- Graham, L.E., Wilcox, L.W., Algae, T-Ryu (Ed), (2000) *Upper Saddle River: Prentice-Hall*: 97-127.
- Gustafson, K.R., Cardellina, J.H., Fuller, R.W., Weslow, O.S., Kiser, R.F., Snader, K.M., Paterson, G.M., and Boyd, R.J. Natl Cancer Inst. (1989) AIDS-Antiviral Sulfolipids From Cyanobacteria (Blue-Green Algae), *Journal of the National Cancer Institute*, 81: 1254-1258. <https://doi.org/10.1093/jnci/81.16.1254>
- Hayashi, O., Katoh, T., Okuwaki, Y. (1994) Enhancement of antibody production in mice by dietary *Spirulina platensis*. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 40(5): 431-441. <https://doi.org/10.3177/jnsv.40.431>
- Henrikson, R., (2011) Development of a *Spirulina* Industry-Marketing. <http://www.algaeindustrymagazine.com/special-report-spirulina-part-6/>  
Erişim tarihi: 20.01.2016
- Hernández-Corona, A., Nieves, I., Meckes, M., Chamorro, G., Barron, B.L. (2002) Antiviral activity of *Spirulina maxima* against herpes simplex virus type 2, *Antiviral Research*, 56(3): 279–285. [https://doi.org/10.1016/S0166-3542\(02\)00132-8](https://doi.org/10.1016/S0166-3542(02)00132-8)
- Herrera, A., Boussiba, S., Napoleone, V., and Hohlberg, A. (1989) Recovery of Cphycocyanin from the cyanobacterium *Spirulina maxima*, *Journal of Applied Phycology*, 1: 325-331.
- Hitzfeld, B.C., Hoeger S.J., Dietrich, D.R. (2000) Cyanobacterial toxins: removal during drinking water treatment, and human risk assesment, *Environmental Health Perspectives*, 151: 113-122. <https://doi.org/10.1289/ehp.00108s1113>

Hsieh-Lo, M., Castillo, G., Ochoa-Becerra, M.A. & Mojica, L. (2019) Phycocyanin and phycoerythrin: Strategies to improve production yield and chemical stability, *Algal Research*, 42. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101600>

[https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/829990/tab/taxo?lg=en](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/829990/tab/taxo?lg=en)

Ishiura, M., Katsuna, S., Aoki, S., Iwasaki, H., Andersson, C.R., Tanabe, A., Golden, S.S., Johnson, C.H., Kondo, T. (1998) Expression of gene cluster *kaiABC* as circadian feedback process in cyanobacteria, *Science*, 281: 1519-1523. <https://doi.org/10.1126/science.281.5382.1519>

Jaeschke, D.P., Mercali, G.D., Marczak, L.D.F., Müller, G., Frey, W., & Gusbeth, C. (2019) Extraction of valuable compounds from *Arthrospira platensis* using pulsed electric field treatment, *Bioresource Technology*, 283:207–212. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.035>

Jaeschke, D.P., Teixeira, I.R., Marczak, L.D.F., Mercali, G.D. (2021) Phycocyanin from *Spirulina*: A review of extraction methods and stability, *Food Research International*, 143, 110314. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110314>

Jespersen, L., Strømdahl, L.D., Olsen, K., & Skibsted, L.H., (2005) Heat and light stability of three natural blue colorants for use in confectionery and beverages. *European Food Research and Technology*, 220(3-4): 261–266. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1062-7>

Kahraman, S.D. ve Küplülü, Ö. (2012) Siyanobakteriler ve Toksinleri, *Veteriner Hekimler Der.*, 83(2): 36-47. <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/405353>

Kamble S.P., Gaikar R.B., Padalia R.B., Shinde K.D. (2013) Extraction and purification of C-phycocyanin from dry *Spirulina* powder and evaluating its antioxidant, anticoagulation and prevention of DNA damage activity, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3: 149-153 <https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.3826>

Kannaujiya, V.K., Sinha, R.P. (2016) Thermokinetic stability of phycocyanin and phycoerythrin in food-grade preservatives. *Journal of Applied Phycology*, 28: 1063–1070. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0638-x>

- Karaali, A., Özçelik, B., (1993) Natural and Synthetic Colours as Food Additives (*in Turkish with English abstract*), *Gıda*, 18(6): 389-396.
- Keeton, W.T., Gould, J.L., Gould, C.G. (2004) Genel Biyoloji (Biological Science) 2, beşinci baskı, Çeviri Editörleri: Demirsoy, A. Türkan, İ. Gündüz, E. Palme Yayıncılık, Ankara.
- Khandual, S., Sanchez, E.O.L., Andrews, H.E., (2021) Phycocyanin content and nutritional profile of *Arthrospira platensis* from Mexico: efficient extraction process and stability evaluation of phycocyanin, *BMC Chemistry* 15, 24: 1-13. <https://doi.org/10.1186/s13065-021-00746-1>
- Kling, H.J., Watson, S. (2003) A new planktic species of *Pseudanabaena* (Cyanoprokaryota, Oscillatoriales) from North American large lakes, *Hydrobiologia*, 502: 383–388.
- Koru E., Cirik S. (2003) *Spirulina platensis* (Cyanophyceae) Mikroalg'ının Büyümesine ve Bazı Biyokimyasal Özelliklerine Sıcaklığın Etkisi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 20(3-4): 419-422.
- Kovancı, M. (2016) *Termal Su Siyanobakterisi Pseudanabaena sp.'nin Esansiyel Yağ ve Fikobiliprotein İçeriğinin Tespiti*, Yüksek Lisans Tezi, Muğla, 53s.
- Kulshreshtha, A., Jarouliya, U., Bhadauriya, P., Prasad, G., Bisen, P. (2008) Spirulina in health care management, *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 9: 400-405.
- Lewin, R. A. (1976) Prochlorophyta as a proposed new division of algae, *Nature*, 261: 697–698.
- Liu, Y., Xu, L., Cheng, N., Lin, L., 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.
- Maccoll, R. (1998) Cyanobacterial Phycobilisomes, *Journal Of Structural Biology*. 124: 311-334. <https://doi.org/10.1006/jsbi.1998.4062>
- Matos, A.P. (2020) Microalgae as a potential source of proteins, *Proteins Sustain Source. Process Appl.*: 63-96. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816695-6.00003-9>

- Mishra, S. K., Shrivastav, A., & Mishra, S. (2008) Effect of preservatives for food grade C-PC from *Spirulina platensis*. *Process Biochemistry*, 43(4): 339–345. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.12.012>
- Mishra, S.K. vd. (2010) Effect of preservatives for food grade C-Phycocerythrin, isolated from marine cyanobacteria *Pseudanabaena* sp., *International Journal of Biological Macromolecules*, 47: 597–602 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.08.005>
- Mishra, S.K. vd. (2011) Preparation of highly purified C-phycoerythrin from marine cyanobacterium *Pseudanabaena* sp., *Protein Expression and Purification*, 80: 234–238. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2011.06.016>
- Mishra, S.K. vd. (2012) Effect of light quality on the C-phycoerythrin production in marine cyanobacteria *Pseudanabaena* sp. isolated from Gujarat coast, India. *Protein Expression and Purification*, 81: 5–10. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2011.08.011>
- Moraes, C.C, Sala, L., Cerveira, G.P., and Kalil, S.J. (2011) C-Phycocyanin Extraction From *Spirulina Platensis* Wet Biomass, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 28(1): 45-49. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322011000100006>
- Munawaroh, H.S.H., Gumilar, G.G., Alifia, C.R., Marthania, M., Stellasary, B., Yuliani, G., Show, P.L. (2020) Photostabilization of phycocyanin from *Spirulina platensis* modified by formaldehyde, *Process Biochemistry*, 94: 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.04.021>
- Mur, L.R., Skulberg, O.M., Utkilen, H. (1999) Toxic cyanobacteria in water. *In: Cyanobacteria in the environment*, Spon Pres London, 417: 15-34.
- Nakaya, N., Homma, Y., Goto, Y. (1988) Cholesterol lowering effect of *Spirulina*. *Nutrition Reports International*, 37(6): 1329-1337.
- Niu, J-F., Wang, G-C., and Tseng, C-K. (2006) Method for Large-Scale Isolation and Purification of R-Phycocerythrin Red Alga *Polysiphonia urceolata* Grev, *Protein Expression and Purification*, 49(1): 23-31 <https://doi.org/10.1016/j.pep.2006.02.001>

- Nowicka-Krawczyk, P., Mühlsteinová, R., Hauer, T., (2019) Detailed characterization of the *Arthrospira* type species separating commercially grown taxa into the new genus *Limnospira* (Cyanobacteria), *Scientific Reports*, 9(1), 694: 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36831-0>
- Nuhu A.A. (2013) *Spirulina (Arthrospira)*:An important source of nutritional and medicinal compounds, *Journal of Marine Biology*: 1-8. <https://doi.org/10.1155/2013/325636>
- Ökmen, G., Türkcan, O. (2013) *Anabaena* sp.'nin Pigment İçerikleri Üzerine Glukoz ve Sukrozun Etkisi, *Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü*, Muğla, 38(4) :223-229. <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/79026>
- Öztürk, U.S., Öztürk, M., Kurt, O., Taskın, E., Öztürk, M. (2007) Dikili İlçesi (İzmir) Kaplıcalarında Yayılış Gösteren Thermal *Cyanophyceae* (Mavi-Yesil Alg) Türleri. Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Demirci Eğitim Fakültesi: 371-378.
- Panutai, W., Kahapana, W., & Iamtham, S. (2018) Extraction of C-phycoyanin from *Arthrospira (Spirulina)* and its thermal stability with citric acid, *Journal of Applied Phycology*, 30: 231-242. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1155-x>
- Patil, G., Chethana, S., Madsusudhan, M.C., Raghavaro, K.S.M.S. (2008) Fractionation and purification of the phycobiliproteins from *Spirulina platensis*, *Bioresource Technology*, 99(15): 7393-7396.
- Pelizer, L.H., de Carvalho J.C.M., de Oliveira Moraes I. (2020) Protein production by *Arthrospira (Spirulina) platensis* in solid state cultivation using sugarcane bagasse as support, *Biotechnology Reports*, 5: 70-76. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.12.006>
- Qureshi, M., Ali, R.A. (1996a) Phagocytic potential of Feline macrophages after exposure to a water soluble extract of *Spirulina* in vitro, *Immunopharmacol Immunotoxicology*, 18(3): 342-354.
- Qureshi, M., Ali, R.A. (1996b) *Spirulina platensis* exposure enhances macrophage phagocytic function in cats, *Immunopharmacol Immunotoxicology*, 18(3): 457-463.

- Raja, R., Hemaiswarya, S., Kumar, N.A., Sridhar, S., Rengasamy, R. (2008) A perspective on the biotechnological potential of microalgae, *Critical Reviews in Microbiology*, 34: 77–88. <https://doi.org/10.1080/10408410802086783>
- Ramos, A., Acien, F.G., Sevilla, J.M.F., González, C.V., Bermejo, R. (2010) Large-scale isolation and purification of C-phycoerythrin from the cyanobacteria *Anabaena marina* using expanded bed adsorption chromatography, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 85: 783–792. <https://doi.org/10.1002/jctb.2361>
- Rito-Palomares, M., Nuñez, L., Amador, D. (2001) Practical application of aqueous two-phase systems for the development of a prototype process for c-phycoerythrin recovery from *Spirulina maxima*, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 76(12): 1273–1280. <https://doi.org/10.1002/jctb.507>
- Romay, C., Armesto, J., Ramirez, D., Gonzalez, R., Ledon, N., Garcia, I. (1998) Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycoerythrin from blue-green algae, *Inflammation Research*, 47: 36–41. <https://doi.org/10.1007/s000110050256>
- Safari, R., Raftani, Amiri, Z., Esmaeilzadeh, Kenari, R. (2018) Evaluation of the effect of temperature, time and pH on stability of phycoerythrin extracted from *Spirulina platensis*, *Iranian Fisheries Research Organization*, 26(5): 85–93. <https://doaj.org/article/0321a00bf27641aabe92defe51446f78>
- Santiago-Santos, Mac, Ponce-Noyola, T., Olvera-Ramírez, R., Ortega-López, J., Cañizares-Villanueva, R.O. (2004) Extraction and purification of phycoerythrin from *Calothrix* sp. , *Process Biochemistry*, 39: 2047–2052. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2003.10.007>
- Sarada, R., Pillai, M.G., and Ravishankar, A. (1999) Phycoerythrin from *Spirulina* sp.: influence of processing of biomass on phycoerythrin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycoerythrin, *Process Biochemistry*, 24: 795–801. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(98\)00153-8](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(98)00153-8)
- Seckbach, J. (2007) Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments, *Springer*, Chapter 5, 413–424.

- Sekar, S., Chandramohan, M. (2008) Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization, *Journal of Applied Phycology*, 20(2):113–136. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9188-1>
- Singh, N.K., Parmar, A., Madamwar, D. (2009) Optimization of medium components for increased production of C-phycoerythrin from *Phormidium ceylanicum* and its purification by single step process, *Bioresource Technology*, 100:1663-1669.
- Soni, B., Trivedi, U., and Madamwar, D. (2008) A Novel Method of Single Step Hydrophobic Interaction Chromatography for the Purification of Phycocyanin from *Phormidium fragile* and its Characterization for Antioxidant Property, *Bioresource Technology*, 99(1):188-194. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.11.010>
- Sørensen, L., Hantke, A., Eriksen, N.T. (2013) Purification of the photosynthetic pigment C-phycoerythrin from heterotrophic *Galdieria sulphuraria*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93: 2933–2938. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6116>
- Stanier, R.Y., Rogers, H.J., Ward, B.J. (1978) Relations between Structure and Function in the Prokaryotic Cell, *Biochemical Society Transactions*, Cambridge University Press, London, New York and Malbourne, 369 s. 380-381. <https://doi.org/10.1042/bst0070819>
- Stanic-Vucinic, D., Minic, S., Nikolic, M. R., & Velickovic, T.C. (2018) *Spirulina* Phycobiliproteins as Food Components and Complements, *Intech Open Microalgal Biotechnology*: 129-149. <https://dx.doi.org/10.5772/intechopen.73791>
- Stec, B., Troxler, R.F., Teeter, M.M. (1999) Crystal structure of C-phycoerythrin from *Cyanidium caldarium* provides a new perspective in phycobilisome assembly, *Biophysical Journal*, 76: 2912-2921. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)77446-1](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(99)77446-1)
- Sun, Z., Liu, J., Zhou, Z-G. (2016) *Algae for Biofuels: An emerging feedstock, Handbook of Biofuels Production* (Second Edition). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100455-5.00022-9>
- Sun, L., Wang, S., & Qiao, Z. (2006) Chemical stabilization of the phycocyanin from cyanobacterium *Spirulina platensis*, *Journal of Biotechnology*, 121(4): 563–569. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.08.017>

- Tamburacı, S. (2009) *Termal Sudan İole Edilen Pseudanabaena sp. Susunun Üretim Koşullarının Optimizasyonu*. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Bornova-İzmir.
- Taş, B., ve Taş, E. (2007) Mavi-Yeşil Alglerin (Cyanobacteria) Evolusyonu ve Stromatolitler, *Biyoloji Eğitiminde Evrim Sempozyumu*, 2007, Malatya, : 233-242.
- Tunail, N. (2009) *Mikrobiyoloji*, Pelin ofset, Ankara, 448s.
- Vo, T.S., Ngo, D.H., Kim, S.K. (2015) Nutritional and pharmaceutical properties of microalgal *Spirulina*, *Handbook of Marine Microalgae*, Academic Press, New York: 299-308. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00019-4>
- Vonshak, A. (1997) *Spirulina: Growth, Physiology and Biochemistry. Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology*, Taylor and Francis publishers, London, 233s. <https://doi.org/10.1201/9781482272970>
- Wu., H.L., Wang, G.H., Xiang, W.Z., Li, T., & He, H. (2016) Stability and Antioxidant Activity of Food-Grade Phycocyanin Isolated from *Spirulina platensis*, *International Journal of Food Properties*, 19(10) :2349-2362. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1038564>
- Yentürk, G., Yaman, M., Bayhan, A. (1998) Studies conducted for the quantity determination of synthetic dyes added into some foodstuffs (in Turkish with English abstract), *Gıda*, 23(3), 195-199.
- Zhang, Z., Li, Y., & Abbaspourrad, A. (2020) Improvement of the colloidal stability of phycocyanin in acidified conditions using whey protein-phycocyanin interactions, *Food Hydrocolloids*, 105:105747 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105747>
- Zhou, Z.P., Liu, L.N., Chen, X.L., Wang, J.X., Chen, M., Zhang, Y.Z., Zhou, B.C. (2005) Factors that effect antioxidant activity of C-phycocyanins from *Spirulina platensis*, *Journal of Food Biochemistry*, 29: 313-322. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2005.00035.x>

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : F\*\*\*\*h İ\*\*\*\*N  
Uyruk : T.C.  
Doğum Yeri ve Tarihi : Muğla – 0\*.0\*.1\*\*1  
Medeni Hali : Bekâr  
E-posta : fa\*\*\*\*\*ten@tarimorman.gov.tr

### Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Yatağan Anadolu Lisesi	2009
Lisans	Celal Bayar Üniversitesi	2013
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2021

### İş Tecrübesi

Yıl	Yer	Pozisyon/Görev
2010-2012 (yaz tatili)	Tui Pegasus Hotels(Sarıgerme-Ortaca/Muğla)	Kalite Departmanı/ Kalite Kontrol Görevlisi
2013	Bayraklı Toplum Sağlığı Merkezi(İzmir)	Memur
2014	İzmir Halk Sağlığı Müdürlüğü	Memur
2014	Doğubeyazıt İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü	Gıda Mühendisi
2015-	Dalaman İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü	Gıda Mühendisi

### Yabancı Dil

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