

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MUNZUR
ÜNİVERSİTESİ
2008

**PROBİYOTİK-PREBİYOTİK İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ZARROUK
BESİN ORTAMINDA KÜLTÜRE ALINAN *Spirulina platensis* 'İN
FARKLI ORTAM KOŞULLARINDA PROTEİN İÇERİĞİNİN
İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Elif SEYHANEYILDIZ**

Anabilim Dalı: Su Ürünleri

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa DÖRÜCÜ**

**II. DANIŞMAN
Doç. Dr. Şafak SEYHANEYILDIZ CAN**

TUNCELİ – 2019

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PROBİYOTİK-PREBİYOTİK İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ZARROUK
BESİN ORTAMINDA KÜLTÜRE ALINAN *Spirulina platensis*'İN
FARKLI ORTAM KOŞULLARINDA PROTEİN İÇERİĞİNİN
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Elif SEYHANEYILDIZ
(111106104)

Anabilim Dalı: Su Ürünleri

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa DÖRÜCÜ

II. DANIŞMAN
Doç. Dr. Şafak SEYHANEYILDIZ CAN

TUNCELİ – 2019

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PROBİYOTİK-PREBİYOTİK İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ZARROUK
BESİN ORTAMINDA KÜLTÜRE ALINAN *Spirulina platensis*'İN
FARKLI ORTAM KOŞULLARINDA PROTEİN İÇERİĞİNİN
İNCELENMESİ

Elif SEYHANEYILDIZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 20/05/2019 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği/oyçokluğu** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

İmza:.....

İmza:.....

Prof. Dr. Mustafa DÖRÜCÜ
(Munzur Üniversitesi)

Prof. Dr. Naim SAĞLAM
(Fırat Üniversitesi)

Doç. Dr. Erkan CAN
(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

ÜYE

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Prof. Dr. Numan YILDIRIM
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: YLMUB017-02

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı "Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu"ndaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Bu çalışma, içerisinde probiyotik bakterilerden *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium thermophilum* ve *Leuconostoc mesenteroides*'in, prebiyotik olarak ise betaglukan ve oligosakkarid karışımının bulunduğu probiyotik-prebiyotik (P-P) bir ürünün *Spirulina platensis*'e etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Yapılan çalışmada, biri kontrol olmak üzere 4 farklı grup kullanılmıştır. 1. gruba 0.01, 2. gruba 0.05 ve 3. gruba 0.1 ml/L P-P ilave edilmiştir. Her bir besin ortamı ile oluşturulan deneme iki farklı sıcaklık (20 ve 40 °C) ve iki farklı aydınlatma (1600 ve 3200 lux) kullanılarak yapılmıştır. Biyomas açısından bakıldığında P-P ürünü, farklı sıcaklıklarda farklı tepkiler verse de protein oranı bakımından bütün gruplarda sonuçları olumlu olmuştur. Hem biyomasa hem de protein içeriğine en olumlu etki ise %68.71 protein içeriği ve ortalama 0.727 OD ile 40 °C'de ve 3200 aydınlatmada 0.1 ml/L P-P ürünün ilave edildiği grupta olmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Spirulina platensis*, Probiyotik-Prebiyotik, Biyomas, Protein.

ABSTRACT

Investigation of Protein Content of *Spirulina platensis* Enriched with Probiotic-Prebiotic supplementation in Zarouk Medium in Different Environmental Conditions

This study was carried out to determine the effects of the probiotic-prebiotic product that the mixture of the probiotic bacteria *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium thermophilum* and *Leuconostoc mesenteroides*, the beta-glucan and oligosaccharide as prebiotics on *Spirulina platensis*. In the study, 4 different groups were used, one of which was control. In the first group, 0.01 ml / L P-P, second group, 0.05 ml / L P-P and third group 0.1 ml / L P-P was added. The experiment was performed with two different temperatures (20 and 40 °C) and two different illuminations (1600 and 3200 lux). In terms of biomass, the P-P product reacts differently at different temperatures, but the results have been favorable in terms of protein content in all groups. The most favorable effect on both biomass and protein content was the addition of 0.1 ml / L P-P product of 68.71 and an average of 0.727 OD respectively at 40 °C and 3200 illumination.

Key Words: *Spirulina platensis*, Probiotic-Prebiotic, Biomass, Protein.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimin boyunca beni yönlendiren, bilgilendiren, her türlü desteğini gördüğüm ve tecrübelerinden istifade ettiğim tez danışmanlarım Prof. Dr. Mustafa DÖRÜCÜ ve Doç. Dr. Şafak SEYHANEYILDIZ CAN'a, tezin yazımı esnasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Erkan CAN'a, laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Araş. Gör. Dr. Abdüllatif ÖLÇÜLÜ'ye teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında her aşamada desteğini gördüğüm, maddi manevi desteklerini esirgemeyen değerli aileme sabır ve anlayışlarından ötürü teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma MUNİBAP tarafından desteklenmiştir.

Elif SEYHANEYILDIZ

TUNCELİ-2019

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	1
ŞEKİLLER LİSTESİ	3
TABLolar LİSTESİ	4
1. GİRİŞ	5
1.1. <i>Spirulina</i> 'nın Genel Özellikleri	2
1.1.1. Morfoloji ve Taksonomisi	2
1.1.1.1. Morfoloji	2
1.1.1.2. Taksonomi	2
1.1.1.3. Doğal Yaşam Alanları ve Gelişimi	3
1.1.1.4. Biyokimyasal Kompozisyon	4
1.1.1.4.1. Protein	4
1.1.1.4.2. Esansiyel Yağ Asitleri	5
1.1.1.4.3. B-Karoten ve Vitaminler	5
1.1.1.4.4. Mineraller	6
1.1.1.4.7. Amino Asitler	7
1.1.1.4.5. Fotosentetik Pigmentler	7
1.1.1.4.6. Besin İçeriği	7
1.2. <i>Spirulina</i> 'nın Üretimi	8
1.2.1. <i>Spirulina</i> 'nın Doğal Üretimi	8
1.2.1. <i>Spirulina</i> Ticari Kültürü	10
1.2.1.1. Büyüme Faktörleri	10
1.2.1.1.1. Besin Ortamı	10
1.2.1.1.2. Karbon Kaynağı	11
1.2.1.1.3. Sıcaklık	11
1.2.1.1.4. Su Kalitesi	12
1.2.1.1.5. Aydınlatma	12
1.2.1.1.6. pH	13
1.2.1.1.7. Çalkalanma	13
1.2.1.1.8. Kontaminasyon	13
1.2.1.1.9. Diğer Gelişme Faktörleri	14
1.2.1.2. <i>Spirulina</i> 'nın Geleneksel Tarıma Göre Avantajları	14
1.2.1.2.1. Yüksek Verim	14
1.2.1.2.2. Toprak Gereksinimi	14
1.2.1.2.3. Su Kullanımı	15
1.2.1.2.4. Enerji Verimliliği	15
1.2.1.3. <i>Spirulina</i> 'nın Küçük Ölçekli Ticari Üretimi	15
1.2.1.3. <i>Spirulina</i> 'nın Ticari ve Yoğun Üretimi	17
1.3. <i>Spirulina</i> 'nın İnsanlar, Balık, Diğer Hayvanlar İçin Kullanımı ve Faydaları ..	18
1.3.1. <i>Spirulina</i> 'nın İnsanlar Tarafından Kullanımı	18
1.3.2. <i>Spirulina</i> 'nın Gübre Olarak Kullanımı	19
1.3.3. Hayvan Yemlerinde Protein Takviyesi Olarak Kullanımı	19
1.3.4. Renklendirici Olarak Kullanımı	20

1.3.5. Prebiyotik Probiyotik.....	20
2. MATERYAL ve METOT	21
2.1. Deneysel Tür	21
2.3. Besin Ortamlarının Sterilizasyonu.....	22
2.3. Besin Ortamlarına Alg Ekimi	23
2.4. Deneme Ortamları	23
2.4.1. 20 °c Ve 1600 Lux Aydınlatmada Yapılan <i>S. platensis</i> Kültürü	23
2.4.2. 20 °c Ve 3200 Lux Aydınlatmada Yapılan <i>S. platensis</i> Kültürü	24
2.4.3. 40 °c Ve 1600 Lux Aydınlatmada Yapılan <i>S. platensis</i> Kültürü	25
2.4.4. 40 °c Ve 3200 Lux Aydınlatmada Yapılan <i>S. platensis</i> Kültürü	25
2.5. Kjeldahl Metodu ile Protein Analizi.....	27
2.6. İstatistiksel Analizler	29
3. BULGULAR	30
3.1. 20 °c ve 1600 Lux Aydınlatmada Yapılan <i>S. platensis</i> Kültürü	30
3.2. 20 °c ve 3200 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> Kültürü	31
3.3. 40 °c ve 1600 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> Kültürü	33
3.4. 40 °c ve 3200 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> Kültürü	35
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	38
5. KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	47

SEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Aztek'lerin Meksika'daki Göllerden <i>Spirulina</i> Toplaması.....	5
Şekil 1.2. Texcoco Gölü'nde <i>Spirulina</i> Kültürü	9
Şekil 1.3. <i>Spirulina</i> 'nın Kurutulması	10
Şekil 1.4. Küçük Ölçekli <i>Spirulina</i> Üretimi	16
Şekil 2.1. <i>S. platensis</i>	21
Şekil 2.2. 20 °c'de 1600 Lux Aydınlatmada Kültüre Alınan <i>S. platensis</i>	24
Şekil 2.3. 20 °c'de 3200 Lux Aydınlatmada Kültüre Alınan <i>S. platensis</i>	24
Şekil 2.4. 40 °c'de 1600 Lux Aydınlatmada Kültüre Alınan <i>S. platensis</i>	25
Şekil 2.5. 40 °c'de 3200 Lux Aydınlatmada Kültüre Alınan <i>S. platensis</i>	25
Şekil 2.6. Alglerin Plankton Bezi ile Süzülmesi	26
Şekil 2.7. 20 °c'de 1600/3200 Lux Aydınlatmada ve 40 °C'de 1600/3200 Lux Aydınlatmada Kurutulmuş Algler	27
Şekil 2.8. Yakma Ünitesinde Yakılan ve Oda Sıcaklığında Soğutulan Örnekler....	28
Şekil 2.9. Destilasyon ve Titrasyon İşlemi	28
Şekil 3.1. 20 °C ve 1600 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> 'in Optik Yoğunluğu	30
Şekil 3.2. 20 °C ve 1600 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> 'in Protein Oranı ...	31
Şekil 3.3. 20 °C ve 3200 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> 'in Optik Yoğunluğu	32
Şekil 3.4. 20 °C ve 3200 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> 'in Protein Oranı ...	33
Şekil 3.5. 40 °C ve 1600 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> 'in Optik Yoğunluğu	34
Şekil 3.6. 40 °C ve 1600 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> 'in Protein Oranı ...	35
Şekil 3.7. 40 °C ve 3200 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> 'in Optik Yoğunluğu	36
Şekil 3.8. 40 °C ve 3200 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> 'in Protein Oranı ...	37

TABLolar LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Zarrouk Kültür Ortamı (Zarrouk, 1966).....	22
Tablo 3.1. 20 °C ve 1600 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> 'in Optik Yoğunluk ve Kuru Ağırlık ile İlgili İstatistiksel Veriler	31
Tablo 3.2. 20 °C ve 3200 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> 'in Optik Yoğunluk ve Kuru Ağırlık ile İlgili İstatistiksel Veriler	33
Tablo 3.3. 40 °C ve 1600 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> 'in Optik Yoğunluk ve Kuru Ağırlık ile İlgili İstatistiksel Veriler	35
Tablo 3.4. 40 °C ve 3200 Lux Aydınlatma Yapılan <i>S. platensis</i> 'in Optik Yoğunluk ve Kuru Ağırlık ile İlgili İstatistiksel Veriler	37

1. GİRİŞ

Spirulina, sağlıklı gıda endüstrisinde protein ve vitamin takviyesi olarak önemini her geçen gün artırarak sürdüren çok hücreli ve filamentli mavi-yeşil bir algdir. Alkali göllerde doğal olarak bulunan *Spirulina* çok eski zamanlardan beri özellikle o göllere yakın bölgelerde yaşayan insanlar tarafından besin olarak kullanılmıştır (URL 1). On altıncı yüzyılda, İspanyol işgalciler Meksika'yı fethettiklerinde, başkent Tenochtitlan'daki Meksika Vadisi'nde yaşayan Aztekler'in ince ağı aletlerle gölden yemek için bir şeyler topladıklarını ifade etmişlerdir (Şekil 1.1). Aztek'lerin maratondan önce *Spirulina* aldıkları da söylenmektedir (URL 2).



Şekil 1.1. Aztek'lerin Meksika'daki göllerden *Spirulina* toplaması (Çizim Peter T. Furst tarafından Mart 1978 yapılmıştır).

Çad Gölü kıyıları boyunca yaşayan Kanembu halkı kil çömleklerle algleri toplar, süzer ve gölün kumlu kıyılarına güneşte kuruması için yayarlar. Yarı kurutulmuş algler daha sonra küçük kareler halinde kesilir ve güneşte iyice kurutularak yerel pazarda “Dihé” ismiyle satılırdı. Dihéler ufalandıktan sonra baharat olarak yemeklere katılırdı (Abdulqader, ve ark., 2000). Hatta hamile kadınlar algin koyu renginin doğmamış bebeklerini, büyücülerin gözlerinden koruyacağına inanırlardı (Ciferri, 1983).

1940'ta, bir Fransız bitki bilimci Dangeard, Çad Gölü yakınlarındaki Kanembu halkının dihé tüketimiyle ilgili bir rapor yayınlamıştır (Dangeard, 1940). Dangeard ayrıca, aynı alglerin, Doğu Afrika'nın Rift Vadisi'nde ki göllerde bol miktarda olduğunu ve bu göllerin çevresinde yaşayan flamingoların da başlıca besin maddesi olduğunu belirtmiştir.

1964-65 yıllarında, Belçikalı botanikçi Jean Léonard, Trans-Saharan seferinde Çad'da Fort-Lamy'nin (şimdi N'Djamena) yerel pazarlarında yeşilimsi, yenilebilir keklerin satıldığını bildirmiştir (Léonard, 1966).

1967'de, Uluslararası Uygulamalı Mikrobiyoloji Derneği'nde *Spirulina*'nın besinsel özellikleri analiz edilmiş ve kuru ağırlığının %60-70'i gibi yüksek bir oranda protein içerdiği görülmüştür. Ayrıca bu proteinlerin dengeli esansiyel amino asit içeriğine sahip olması *Spirulina*'nın “geleceğin harika gıda kaynağı” olarak kabul edilmesini sağlamıştır. Bu ilk veri, 1970'lerde endüstriyel amaçlı birçok araştırma projesini başlatmak için yeterliydi, çünkü maya, *Chlorella*, *Spirulina* gibi mikroorganizmalar ucuz proteine giden en doğru ve en kestirme yol gibi görünüyordu (Sasson, 1997).

Léonard'ın Afrika'da *Spirulina*'yı yeniden keşfetmesiyle, “Institut français du pétrole” tarafından Sosa-Textcoco adlı şirketten, Mexico City yakınındaki gölde bulunan sodyum bikarbonat üretim tesisindeki buharlaşma havuzlarında üreyen alglerin incelemesini istedi. Bu istek üzerine *Spirulina*'nın sistematik analizi, fizyolojisi ve büyüme gereksinimlerini içeren ilk çalışmalar yapılmış oldu. Zarrouk isimli bir bilim insanının doktora tezinin bir parçası olan bu çalışma 1966'da *Spirulina*'nın ilk büyük ölçekli üretiminin de temelini oluşturmuştur (Sasson, 1997).

Günümüzde *Spirulina* 22'den fazla ülkede üretilmekte ve 77'den fazla ülkede kullanılmaktadır. Sonunda hiçbir mikroorganizma ucuz protein vaadini yerine getirmediyse de, *Spirulina*'nın besin değerinden dolayı, hem araştırmalar hem de alglerin üretimi artarak devam etmektedir (Falquet, 2000).

1.1. *Spirulina*'nın Genel Özellikleri

1.1.1. Morfoloji ve Taksonomisi

1.1.1.1. Morfoloji

Spirulina, havadaki azotu tutabilen, çok hücreli ve filamentli mavi-yeşil simbiyotik bir mikroalgdir. Çubuk veya disk şeklinde olabilir. Başlıca fotosentetik pigmenti mavi renkte olan fikosiyanindir. Ayrıca klorofil a ve karotenoidleri de içerir. Bazı *Spirulina* türleri ise kırmızı veya pembe renkte olan fikoeritrin pigmenti içerir. *Spirulina* fotosentetiktir ve bu nedenle ototroftir ve ikiye bölünerek (binary fizyon) çoğalır.

Filamentlerin (veya trikomların) sarmal şekli, türün karakteristik özelliğidir ve bu özelliğini sadece sıvı bir ortamda veya kültür ortamında sürdürebilir. Filamentlerin sarmal şekilli olması ve ayrıca hücrelerde bulunan gaz vakuolleri sayesinde alg su yüzeyinde durabilmektedir (Richmond, 1986; Kargin-Yılmaz ve ark., 2016). Trikomların uzunluğu 50-500 µm ve genişliği 3-4 µm'dir. *Spirulina* genusunun hücre duvarının yapısında bulunan peptidoglikan varlığı, gram-negatif bakteriler ile benzerlik göstermektedir. Hücreye şekil veren ve ozmotik koruma sağlayan peptidoglikan, lizozime duyarlı bir heteropolimer içerir (Abo-Shady ve ark., 1992).

Elektron mikroskopu ile incelendiğinde morfolojik olarak hücresel yapısında nukleus ve plastidin morfolojik olarak sınırlandırılmadığı, ayrıca dışta gram-negatif tipte bir zara sahip olduğu bildirilmiştir (Dalay ve ark., 2008).

1.1.1.2. Taksonomi

1827'de P.J. Turpin, tatlı su örneğinden *Spirulina*'yı izole etmiştir (Ciferri, 1983). 1844 yılında, Wittrock ve Nordstedt, Montevideo kenti yakınlarında *Spirulina jenneri f. platensis* olarak isimlendirdikleri septal ve helikal mavi yeşil renkte çok hücreli algin varlığını rapor etmişlerdir. Fakat ilk taksonomi 1852 yılında Stizenberger tarafından yapılmıştır. Stizenberger, bu yeni genusa septa varlığına, helis formuna ve çok hücreli yapısına dayanarak *Arthrospira* adını verdi. Gomont ise 1892'de Stizenberger'in çalışmalarını doğruladı. Gomont ayrıca aseptat formunu *Spirulina* genusu, septal formunu ise *Arthrospira* genusu olarak tanımladı. 1932'de Geitler, septum olsun veya olmasın

sadece sarmal morfolojik benzerliklerini göz önünde bulundurarak iki genus üyesini *Spirulina* adı altında birleştirdi. 1989'da, bu mikro organizmalar *Spirulina* ve *Arthrospira* olmak üzere iki cins olarak sınıflandırıldı. Bu sınıflandırma şu anda kabul edilmektedir (Tomaselli ve ark., 1996). Fakat mikroalgler üzerine dünya çapında yapılan incelemeler "*Spirulina*" ismi ile yapılmaktadır. Bilim insanları ve tüketiciler arasındaki bu ortak tanımlamanın değişmesi zor gibi görünmektedir. *S. maxima* ve *S. platensis*, bu cinsteki en önemli türlerdir ve bunların filamentleri, vakuolleri ve her filamentin kapsül düzeni veya external yüzeyi arasında var olan taksonomik farklılıkları vardır (Tomaselli, 1997).

Siyanobakterilerin sistematik konumu, bu fotosentetik organizmalar, alg olarak ilk kez kabul edildiğinde tartışma konusu olmuştur. 1962'de prokaryotlar ve ökaryotlar arasında ki ayırım açıkça ortaya konulmuş, buna göre, ökaryotlar, hücre organellerinin bir fosfolipidik zar ile çevrili olması ile prokaryotlardan ayrılmıştır. Bunun üzerine Stanier ve Van Neil (1962) prokaryotlara mavi-yeşil algleri dahil etmişler ve bu mikroorganizmalara siyanobakteriler denmesini önermişlerdir. Bu atama kabul edilmiş ve ilk kez 1974'te Bergey'nin "Manual of Determinative Bacteriology" kitabında yayınlanmıştır (Guglielmi ve ark., 1993).

1.1.1.3. Doğal Yaşam Alanları ve Gelişimi

Başta Meksika Texcoco Gölü olmak üzere, Orta Afrika'daki Çad ve Nijer Gölleri ve Doğu Afrika ise Büyük Rift Vadisi boyunca uzanan su kaynakları *Spirulina* için doğal yaşam alanlarıdır. Normal su koşullarında, *Spirulina* birçok alg türünden biri olabilir. Fakat Çad'daki Bodou ve Rombou gölleri, yüzyıllar öncesine dayanan sabit bir *Spirulina* monokültürüne sahiptir. Ayrıca Kenya'nın Nakuru ve Elementeita göllerinde ve Etiyopya'nın Aranguadi ve Kilotes göllerinde başlıca alg türüdür. *Spirulina*, ayrıca diğer mikroorganizmaların hayatta kalmasının zor veya imkansız olduğu alkali göllerde büyür (Kebede ve Ahlgren, 1966). Doğal göllerde, sınırlı besin kaynağı genellikle büyüme döngüsünü düzenler. Göllere giren yeni besin kaynakları su kütlelesi içinden yükselbildiği gibi, nehirlere gelen akıntılar en çok da kirlilikten kaynaklanmaktadır. Alg popülasyonu besinle birlikte hızla büyür ve maksimum yoğunluğa ulaşır. Daha sonra besinler tükendiğinde yavaş yavaş ölür. Ayrıışan algler besin olarak suya karıştıklarında yada göle yeni bir besin girişi olduğunda döngü yeniden başlar.

Spirulina toprakta, bataklıklarda, tatlı sularda, acı sularda, deniz suyunda ve termal kaynaklarda bulunur. Özellikle yüksek seviyede güneş ışığına maruz kalan tropik bölgeler, tuzluluğun 30 g/l'ten yüksek olduğu tuzlu sular ve pH 8,5-11,0 arası olan alkali sular *Spirulina* üretimi açısından elverişli ortamlardır. Mavi-yeşil alglerden olan *S. platensis* ve *S. maxima*, Afrika ve Meksika'nın yüksek alkali göllerinde çoğu zaman monospesifik olarak gelişirler. Suyun iletkenliği ve pH'ı ile birlikte *Spirulina* türlerinin popülasyonları da artar. Bu durum sodyum karbonatın bol olduğu ve pH'ın 11'e yakın değerlere ulaşabildiği Doğu Afrika'daki Rift Vadisi göllerinde gözlenir. *S. platensis*'in izole edildiği sularda litre başına 85-270 g tuz elde edilebilmektedir. *Spirulina* üretimi için ideal tuz oranı ise 20-70 g/l'tir. Nispeten yüksek olan sitoplazmik pH, bu mikroorganizmaların, yüksek pH değerlerinde azot kaynağı olarak amonyak kullanma kabiliyeti ile açıklanabilir (Sasson, 1997).

Spirulina, çoğu siyanobakteri gibi, zorunlu bir foto-ototroftur, yani karanlıkta organik karbon bileşikleri içeren ortamlarda büyüyemez. Aydınlik ortam da ise karbondioksiti azaltarak nitratları özümser. *Spirulina*'nın fotosentez sonucu depo ettiği başlıca ürün glikojendir. *Spirulina*, laboratuvar koşullarında 35-37 °C arasında optimum gelişme gösterir. Açık hava koşullarında ise sıcaklığın birkaç saatliğine 39 °C'ye ulaşması mavi-yeşil algere ve onların fotosentetik yeteneklerine zarar vermez. *Spirulina*'nın termofilik veya termotolerant suşları, 35-40 °C arasındaki sıcaklıklarda yetiştirilebilir. *Spirulina*, bu özelliği ile mikrobiyel mezofilik kirleticileri elimine etme avantajına sahiptir. Minimum gelişme sıcaklığı ise yaklaşık 15 ° C'dir, ama geceleri nispeten daha düşük sıcaklıklara tahammül edebilir. Ayrıca ultraviyole ışınlarla olan direnci de oldukça yüksektir (Richmond, 1986).

1.1.1.4. Biyokimyasal Kompozisyon

1.1.1.4.1. Protein

Spirulina, kaynağına bağlı olarak kuru ağırlığının yaklaşık %60-70'i gibi yüksek oranlarda protein içerir (Phang ve ark., 2000). Et, yumurta veya sütteki gibi standart proteinlere kıyasla, daha az miktarda metiyonin, sistin ve lisin olmasına rağmen, bütün esansiyel amino asitleri içeren tam bir proteindir. Ayrıca baklagillerde dahil olmak üzere diğer bütün bitkisel proteinlerden daha üstün içeriklere sahiptir.

1.1.1.4.2. Esansiyel Yağ Asitleri

Spirulina'nın sahip olduğu %5-6'lık toplam yağın %1,5-2'si gibi yüksek bir miktarını çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) oluşturur. *Spirulina* özellikle, toplam PUFA'ların %36'lık oranı ile γ -linolenik asit bakımından zengindir ve ayrıca, linoleik asit (LA), stearidonik asit (SDA), eikosapentaenoik asit (EPA), docoheksaenoik asit (DHA) ve arakidonik asit (AA), diğer önemli yağ asitleridir (Ahsan ve ark., 2008; Borowitzka, 1994; Li ve Qi, 1997). Gama-linolenik asit (GLA), içeriklerde veya diyetlerde nadiren bulunan önemli bir yağ asitidir. “*S. platensis* Z19” olarak isimlendirilen mutant alg, dış ortam koşullarında kültüre alındığında GLA oranı %2,4'e ulaşmış ve bu miktar GLA içeriği açısından *Spirulina*'yı algler arasında en etkili kaynak haline getirmiştir (Tanticharoen ve ark.,1994). GLA, bazı prostaglandinlerin prekürsörüdür ve kandaki kolesterol miktarı üzerinde bir miktar etkisi vardır. Ek olarak, bu ve diğer doymamış yağ asitleri, hücre zarlarının yapısal elemanları olarak hücre büyümesi için esansiyeldir. PUFA'lar ayrıca çok soğuk şartlarda bile akuatik organizmaların hücre geçirgenliğini sağlayarak hücrelerin normal kalmasına yardımcı olurlar.

Kolesterol içeriği açısından incelendiğinde ise 10 gr *Spirulina*'nın 1.3 mg kolesterol içerdiği, buna karşılık 36 kcal enerji sağlarken aynı miktarda yumurta 300 mg kolesterol ve bunun karşılığında 80 kcal enerji sağladığı rapor edilmiştir. Bu sonuçlar diyetlerde *Spirulina* kullanmanın kilo kontrolüne yardımcı olabileceğini göstermektedir (Ahsan ve ark., 2008).

1.1.1.4.3. β -Karoten ve Vitaminler

Spirulina'da bulunan β -karoten, B1 (tiyamin), B2 (riboflavin), B3 (niyasin), B6 (piridoksin), B9 (folik asit), B12 (siyanokobalamin), E vitamini, demir, potasyum ve klorofil, karbonhidrat, yağ, protein ve alkol metabolizmasını düzenlerken cilt, kas ve mukozanın yenilenmesine katkı sağlar. *Spirulina*, bol miktarda doğal β -karoten içerir ve bu β -karotenin, A vitaminine dönüşebilme özelliği vardır. Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Kanser Enstitüsü'nün bulgularına göre, günlük 6,0 mg β -karoten alımı, kanser riskini en aza indirebilmektedir. Günde 4 g *Spirulina* tüketimi 6 mg'lık β -karoten ihtiyacını karşılamaktadır. Bu miktar ile aynı zamanda, B grubu vitaminleri, demir ve kalsiyum ihtiyacı da karşılanmaktadır. 4 g *Spirulina*'dan elde edilen bu besinleri, 100 g'dan fazla

karasal renkli sebzeden elde edilenlere oranla daha fazladır (Ahsan ve ark., 2008). *Spirulina* ayrıca biotin, inositol pantothenik asit A, C, D, E ve K vitaminlerini de içerir (Kargın ve Duru, 2011).

1.1.1.4.4. Mineraller

Laboratuvar koşullarında kültüre alınan *Spirulina*'nın toplam ağırlığının ortalama %2.76–3.00'si esansiyel minerallerden oluşur. Ticari üretimde ise bu oran %7'ye yükselir. *Spirulina* zengin bir potasyum kaynağıdır ve ayrıca kalsiyum, krom, bakır, demir, magnezyum, manganez, fosfor, selenyum, sodyum, germanyum ve çinko da içerir (Kargın ve Duru, 2011). *Spirulina*'nın besin ortamları, sıcaklık, pH, tuzluluk gibi ortam koşulları değiştirildiğinde biriktirdikleri minerallerde değişiklik göstermektedir. Sharma ve Azeez (1988) yaptıkları çalışmalarda farklı sıcaklıklarda, *Spirulina*'nın bakır ve kobaltı biyolojik olarak yüksek oranda biriktirdiklerini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada metal birikimi ile alglerin hayatta kalması arasında negatif bir korelasyon olduğu da gözlenmiştir.

Gabbay ve ark., (1993) siyanobakterilerin, özellikle de *Spirulina subsalsa*'nın tuza karşı toleransı üzerine çalışmışlar ve yapılan çalışmada taze deniz suyu ortamında bulunan *S. subsalsa*'nın hücre içi sodyum ve klorür içeriğini artırdığını tespit etmişlerdir. Gabbay ve ark., (1993) aydınlık ortamın, hücrelerin sodyum ve klorür akışını başlatma kapasitelerini geliştirirken, karanlık ortamın bu akışı durdurduğunu fakat hücrelerin aktif ve canlı kaldıklarını bildirmişlerdir. Siyanobakteri hücrelerinde organik olarak uyumlu, çözünen maddelerin biyosentezi ve birikimi, ozmotik olarak yavaş aynı zamanda kararlı sekonder bir cevaptır. Bolsunovskii ve Kosinenko (2000) radyoaktif ve radyoaktif olmayan fosfor kullanarak alglerin hücre içi fosfor içeriğinin durumunu değerlendirmişler ve hücreye fosfor alımı sırasında yapılan su analizlerinin sonuçlarını etkileyebilecek oranlarda olduğunu tespit etmişlerdir.

Spirulina, toksik mineralleri nötralize edebilecek benzersiz bir kapasiteye sahiptir (Maeda ve Sakaguchi, 1990; Okamura ve Aoyama, 1994). Bu özelliği ile *Spirulina*, arsenik'i su ve yiyeceklerden detoksifiye etmek için kullanılabilir. Aynı zamanda, ağır metallerin su, besin ve çevre üzerindeki zehirli etkilerini şelatlamak veya detoksifiye etmek için de kullanılabilir. Pekin Üniversitesi, *Spirulina*'dan, ağır metallerin toksik ve zehirli etkisini nötralize veya detoksifiye edebilen ve anti-tümör aktivitesi gösteren biyoaktif moleküller ekstrakte etmiştir. Çin'deki bazı enstitüler ise, radyasyon önleyici, anti-tümör ve

yaşlanma karşıtı özellikler gösteren biyomolekül odaklı çalışmalar yapmışlardır (Liu ve ark., 1991; Li ve Qi, 1997).

1.1.1.4.7. Amino Asitler

Spirulina'da bulunan lizin, fenilalanin, tirozin, lösin, metionin, glutamik asit, aspartik asit, triptofan, sistin, serin, arjinin, histidin, treonin, proline, valin, isolösin, alanin, glisin gibi aminoasitlerin konsantrasyonları kullanılan kültür ortamına bağlı olsa da dengelidir ve bu amino asitlerin konsantrasyonları kazein ile benzerlik göstermektedir (Ahsan ve ark., 2008).

1.1.1.4.5. Fotosentetik Pigmentler

Spirulina, klorofil a, ksantofil, beta-karoten, ekinenon, miksoksanofil, zeaksantin, kataksantin, diatoksantin, 3-hidroksi-oksinon, beta-kriptoksantin, osilosiyenin ve fikobiliproteinlerden c-fikosiyanin ve allofikosiyanin gibi pigmentleri içerir (Ahsan ve ark., 2008).

Vonshak ve ark., (1996) laboratuvar koşullarında yetişen, doğal koşullarda toplanan ve farklı tarımsal atık sular kullanılarak kültürü yapılan *Spirulina*'nın ayrıntılı biyokimyasal kompozisyon analizlerini yapmışlardır. Yapılan bu analizlere göre ortamdaki tuzluluğa bağlı olarak hücrelerin biyokimyasal kompozisyonunda değişiklikler olduğu, tuza adapte olmuş hücrelerin klorofil ve protein içeriği azalırken karbonhidrat içeriğinin arttığı rapor edilmiştir.

1.1.1.4.6. Besin İçeriği

Spirulina'nın %70'e varan kaliteli ve yüksek protein içeriği, yaygın olarak bilinen bitkisel protein kaynaklarından (kuru fasulye %35, yer fıstığı %25, tahıl %8-10) çok daha fazladır. *Spirulina*'nın önemli bir diğer özelliği de *Chlorella*, *Ankistrodesmus*, *Selenastrum*, *Scenedesmus* gibi ökaryotik yeşil mikroalglerin aksine hücre duvarlarında selüloz bulunmamasından dolayı kolayca sindirilebilmesidir. Alındıktan yaklaşık 18 saat sonra proteininin %80 'i sindirilir (Sasson, 1997). Ticari olarak satılan *Spirulina*'lar, %60

protein, %20 karbonhidrat, %5 yağ, %7 mineral ve %3-6 nem oranı ile düşük yağlı, düşük kalorili, kolesterol içermeyen bir protein kaynağıdır.

1.2. *Spirulina*'nın Üretimi

1.2.1. *Spirulina*'nın Doğal Üretimi

Ticari üretim sistemlerinin çoğu, bir pedal ile karışımın sağlandığı sığ kanallardan oluşmaktadır. Bu sistemlere raceway adı verilmektedir. Bununla birlikte, doğal üreme alanlarından hasat edilmek suretiyle de ticareti yapılmaktadır. Meksika'da, 1967'de Fransız Petrol Enstitüsü ve Sosa-Textcoco Ltd. işbirliği ile deniz seviyesinde 2200 metre yükseklikte ve yıllık ortalama sıcaklığı 18 °C olan Textcococo Gölü'nden hasat yapılmıştır (Şekil 1.2). Aynı şirket 1936'dan beri göl yataklarından soda çıkarmaktadır. Burası aynı zamanda *Spirulina*'nın saf kültürü için en uygun alandır. “Yarı-doğal” kültür ismi verilen bu işlemde hasattan sonra alg biyokütlesinin iki katına çıkması sadece 3-4 gün sürer. Filtrasyon işleminden sonra, algal biyokütleye homojenizasyon ve pastörizasyon işlemleri uygulanır. Bu işlemlerden sonra algler sonra püskürtme yapılarak kurutulur (Olguín, 1986). Yılda 150 ton kuru *Spirulina* biyokütlesi üreten ilk pilot tesis 1973'te üretime başlamıştır. Bu ilk tesisten sonra üretim kapasitesi 12.0 hektarlık doğal göletlerde yılda 300 tona kadar yükselmiştir Sosa-Textcoco Ltd, üretimdeki artıştan kaynaklanan mühendislik problemlerini çözmek ve ürünü pazarlamadan önce gerekli olan toksikolojik testleri yapmak için 1977'den bu yana 5 milyon ABD doları yatırım yapmıştır (Olguín, 1986).



Şekil 1.2. Texcoco Gölü'nde *Spirulina* kültürü (Hamed, 2016).

Spirulina üretiminin yıllık geliri, şirketin göl yataklarından elde edilen soda üretimi gelirinin sadece üçte birini temsil ettiği için 1995 yılında, Sosa-*Texcoco Spirulina* üretimini durdurmuştur (Ahsan ve ark., 2008). *Spirulina*'nın doğal üretimi için Myanmar'daki bir başka yarı doğal göl de kültür sahası olarak kullanılmıştır. 1984'te dört volkanik gölde doğal *Spirulina* çalışılmaya başlanmıştır. 1988 yılında Twin Taung Gölü'nde üretime başlanmış ve 1999'da üretim 100 ton/yıl'a yükselmiştir. Bu üretimin yaklaşık olarak %60'ı göl yüzeyinden %40 ise gölün dışında bulunan açık havuzlardan hasat edilmiştir. Yaz aylarında, *Spirulina* gölde kalın tabakalar oluşturur ve teknelerdeki insanlar kovalarla yoğun miktarda *Spirulina* toplarlar. *Spirulina* paralel eğimli filtrelerde hasat edilir, tatlı su ile yıkanır, suyu süzülür ve preslenir. Bu macun kıvamındaki preslenmiş alg, güneşte şeffaf plastik tabakalar üzerinde kurutulur (Şekil 1.3). Kurutulmuş alger pastörize edilir ve tablet haline getirilerek satılır.



Şekil 1.3. *Spirulina*'nın kurutulması (Fotoğraf: Marzio Marzot) (URL-2).

1.2.1. *Spirulina* Ticari Kültürü

Spirulina'yı üretebilmek için bazı özel büyüme faktörlerinin, kültür koşullarına uygun hale getirilmesi gerekmektedir.

1.2.1.1. Büyüme Faktörleri

Spirulina yoğun üretim tesislerinin, özellikle yıl boyunca güneş ışığı alan, sıcaklık dalgalanmasının fazla olmadığı uygun iklim koşullarına sahip bölgelere kurulması üretim maliyeti açısından daha verimli olacaktır. *Spirulina* kültüründe etkili olan başlıca faktörler; besin ortamı, karbon kaynağı, sıcaklık, aydınlatma, pH, karıştırma, kontaminasyon ve diğer gelişim faktörleridir (Ciferri, 1983; Ayala, 1998; Usharani ve ark., 2012).

1.2.1.1.1. Besin Ortamı

Spirulina, *Scenedesmus* ve *Chlorella*'ya oranla daha yüksek besin girdilerine ve daha yüksek tuz konsantrasyonuna gereksinim duymaktadır (Ogawa ve Terui, 1970). *Spirulina* kültürü için ilk olarak Zarrouk tarafından geliştirilen Zarrouk kültür ortamı, bikarbonatlarla oluşturulan yüksek alkali değerine sahip ve üretim sistemlerinde halen kullanılan en etkili besin ortamıdır (Usharani ve ark., 2012).

1.2.1.1.2. Karbon Kaynağı

Ogawa ve Terui (1972) *Spirulina*'nın içeriğinde sadece karbonun olduğu organik bileşiklerde büyümediğini bildirmiştir. Alglerin üretimini artırmak için, yoğun kültür sırasında, farklı organik gübre ekstraktları ile zenginleştirilmiş sodyum klorür içermeyen besin ortamları kullanılmıştır. Bu besin ortamlarında *Spirulina subsalsa* ve *Spirulina platensis*'in kuru madde oranı %5-30 oranında artmıştır (Gupta ve ark., 1983). Nasima ve ark., (1996) pirinç kabuğu külünün ve sodyum bikarbonatın *Spirulina* kültüründe karbon kaynağı olarak kullanılabilceğini rapor etmişlerdir. Günlük olarak besin ortamının her bir litresine eklenen 2 g NaHCO₃ ve 1 g piriç kabuğu külü büyümeyi daha iyi desteklemiştir (Gardillo ve ark., 1998). Gardillo ve ark., (1998) atmosferik CO₂ artışının fotosentez hızına ve dolayısıyla da *Spirulina*'nın büyümesi üzerine etkisini incelemiştir. Yapılan çalışmanın sonunda CO₂ artışının, maksimum büyüme oranına herhangi bir etkisi olmazken, pigment içeriğini etkilediği için maksimum biyokütle verimini düşürdüğü rapor edilmiştir.

Vieira Costa ve ark., (2003) raceway sistemlerde *S. platensis*'in biyomas üretimine besin maddelerinin etkisini incelemek amacıyla sisteme karbon kaynağı olarak sodyum bikarbonat, üre kaynağı olarak azot, ayrıca fosfat, sülfat, demir, magnezyum, potasyum gibi besin maddeleri ilave etmişler ve alglerin gelişme oranlarını rapor etmişlerdir. Bu rapora göre besin maddesi ilavesi olmayan lagünlerde *S. platensis*'in biyoması 0.78 ± 0.01 g kuru ağırlık/L iken, 2.88 g/L sodyum bikarbonat ilavesi ile desteklenmiş ortamlarda 40 saat sonra 0.82 ± 0.01 g kuru ağırlık/L olmuştur.

1.2.1.1.3. Sıcaklık

Spirulina'dan maksimum verim elde etmek için en uygun sıcaklık 30-35 °C'dir. 35 °C'nin üstündeki sıcaklıklarda, kültürün mavi-yeşil rengini kaybederek yavaş yavaş beyazımsı bir renge dönüştüğü gözlenir (Somasekaran, 1987). Rafiqul Islam ve ark., (2003), *S. platensis* için 32 °C maksimum spesifik büyüme oranının 0.141, *S. fusiformis* için 37 °C'de 0.144 oranında bulunduğunu bildirmiştir. *S. platensis*'in 32 °C'de maksimum biyomas üretimi 2,4 g/L iken klorofil-a üretimi 16,6 mg/L olduğu, *S. fusiformis* için ise 37 °C'de maksimum biyomas 2.3 g/L iken klorofil-a 14.2 mg/L olduğu rapor edilmiştir. Colla

ve ark., (2004) sıcaklığın en önemli faktörlerden biri olduğunu ve en fazla gamma-linolenik asitin (GLA) 30 °C'de elde edildiğini, *Spirulina*'nın yağ asidi profilinin ise sırasıyla palmitik, linolenik ve linoleik asitler olduğunu tespit etmişlerdir.

1.2.1.1.4. Su kalitesi

Su kalitesinin özellikleri, algal biyomas üretimi için önemlidir. Öncelikle, ortama eklenen besin maddelerinin çözünürlüğü ve ayrıca büyüme fazı boyunca algler tarafından akümüle edilen belirli ağır metaller su kalitesine dolayısıyla da alg kültürüne etki etmektedir (Argaman ve Spivak, 1974).

1.2.1.1.5. Aydınlatma

Spirulina'nın, üretim boyunca ışığa gereksinimi vardır ve büyümesi için gerekli optimal ışık yoğunluğu 20-30 klux'tür (Ogawa ve Teuri, 1970). Subramanian ve Jeejibai (1992) farklı ışık kalitesinin *S. fusiformis*'in büyüme, protein ve pigment sentezi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada 10 saat boyunca 2 Klux ışık yoğunluğundaki floresan ampuller renkli selefona kağıtları ile kaplanarak ışığın farklı renklerde yansımaları sağlanmıştır. En yüksek protein içeriği mavi ışıktan, ardından sarı, beyaz, kırmızı ve yeşil ışıktan elde edilmiştir. Ayrıca kırmızı-turuncu bileşenli beyaz floresan ışığın, protein ve pigment sentezi için daha yüksek enerji sağladığı da rapor edilmiştir. Watanabe ve Hall (1996), 0.255 m²'lik alana yapılan koni şeklindeki helikal tübüler fotobiyoreaktördeki *S. platensis*'in fotosentetik verimliliğini araştırmışlar. Bunun için ışıklandırma beyaz floresan ile 1249 kJ/gün olmak üzere fotobiyoreaktörün iç yüzeyinden yapılmış ve elde edilen maksimum fotosentetik verimin, yüzde 6.83 kuru biyomasın ise 15.9 g/m².gün olduğu bildirilmiştir.

Dubey (2006), hem yüksek ışığın hem de düşük ışığın fotolize etki ettiğini, bu nedenle *Spirulina* kültürüne orta derecede ışık yoğunluğunun daha verimli olduğunu rapor etmiştir. Pandey ve ark., (2010) 5 klux ışık yoğunluğu kullanılarak yapılan *S. platensis* kültüründe kuru ağırlığın 0.85 g/500 mL, protein içeriğinin %64.3 ve klorofilin ise 9.8 mg/g kuru ağırlık olduğunu bulmuşlardır. Golmakani ve ark., (2012), *S. platensis*'i ilaç ve nutrasötik madde kaynağı olan g-linolenik asit (GLnA) bakımından incelemişler ve 5 klux ışık yoğunluğunda yapılan kültürde GLnA verimini 32 mg/L bulmuşlardır.

1.2.1.1.6. pH

Vincent ve Silvester, pH'in alglerin besinsel ve fizyolojik özellikleri üzerinde doğrudan etkisi olduğunu bildirmişlerdir. pH, kültürdeki karbon kaynağı ve minerallerin doğrudan veya dolaylı olarak çözünürlüğünü de etkilemiştir. Yapılan çalışmalarda *Spirulina'nın*, 9- 11 arasındaki pH değerlerinde iyi gelişme gösterdiği, yoğun kültürde optimal pH değerinin ise bikarbonat ve sodyum iyonlarının tüketimi nedeniyle 8.4'ten 9.5'e çıkarılmasının daha uygun olduğu rapor edilmiştir. Pandey ve ark., (2010) pH'ın *S. platensis*'in biyomas artışı, protein ve klorofil içeriği üzerine etkisini incelemişler ve pH'ı 9 olan besin ortamında *S. platensis*'in kuru ağırlığının 0.91 g/500 mL, protein içeriğinin %64.3 ve klorofilin 13.2 mg/g olduğunu bulmuşlardır.

1.2.1.1.7. Çalkalanma

Algal kültürlerinin çalkalanması, besin ve CO₂ dağılımının homojen olması ve termal tabakalaşmanın önlenmesi için gereklidir. Motor gücüyle çalışan pedallar, pompalar, yerçekimi akışı ile karıştırma, çalkalama cihazı ve manuel çalkalama gibi yöntemler de bildirilmiştir (Venkataraman ve Becker, 1986). Dubey (2006), motor gücüyle döndürülen pedallarla veya diğer yöntemlerle çalkalanarak alglerin süspansiyon halinde tutulmasının, aynı zamanda da havalandırılmasının daha kaliteli ve verimli biyomas elde edilmesi için önemli olduğunu bildirmiştir.

1.2.1.1.8. Kontaminasyon

Venkataraman ve Becker (1986), *S. platensis*'in yoğun üretimi sırasında sivrisinek larvalarının, purpal aşamaya girmeden önce, 2-3 gün boyunca kültürden beslendiklerini ve alg veriminde %10'luk bir azalmaya neden olduklarını rapor etmişlerdir. *S. platensis*'in dış ortamda yapılan kültüründe bakteriyel kirleticilerin varlığını da bildirmişlerdir. Kültürlerde oluşan bakteriyel formlar aerobik spor oluşturan türler olarak tanımlanmıştır. Fakat ürün güvenliğini etkileyen patojenik formlar bulunmamıştır.

1.2.1.1.9. Diğer Gelişme Faktörleri

Ahluwalia ve Kochar (1992) civa klorür, kadmiyum klorür, nikel sülfat ve çinko klorürün *S. platensis*'in büyümesi üzerindeki etkisini çalışmışlar. Yapılan çalışmada metaller arasında en toksik olarak civa bulunmuş ve alg büyümesi 0.01 ppm'de bile azalmıştır. Civayı kadmiyum (0.1 ppm) takip etmiştir. Daha yüksek dozlar, alglerin parçalanmasına ve ölümlerine sebep olmuştur. İnsan tüketimi için üretilen çeşitli *Spirulina* ürünleri, soğuk buhar atomik absorpsiyon ve grafit fırın atomik absorpsiyon kullanılarak civa ve kurşun içeriği açısından analiz edilmiştir. Analiz edilen hiçbir ürün, Hg ve Pb konsantrasyonları açısından WHO/FAO (Dünya Sağlık Örgütü/Gıda ve Tarım Örgütü) uyarı kılavuzlarında yer alan günlük doz aşım miktarına yaklaşmamıştır (Sloten ve ark., 1989).

Nanda ve Padhi (1992), *S. platensis*'in büyümesi ve pigmentasyonu üzerine sodyum tuzunun (2,4-Diklorofenoksiasetik asit) etkisini incelemişlerdir. İnceleme sonucunda algin 2,4-Diklorofenoksiasetik asite karşı çok hassas olduğu ve sodyum 5 mg/mL'lik konsantrasyonun büyümeyi inhibe edici etkisi olduğu rapor edilmiştir. Sasaki ve ark., (1995), *S. platensis*'in büyümesinin 5-Aminolevulinik asit (ALA, 500 mg/L) eklenerek uyarıldığını bildirmiştir. ALA, fikosiyanın ve klorofil II'nin birikmesini ve uyarılmasını hızlandırarak fotosentetik aktivitenin artmasını sağlamıştır.

1.2.1.2. *Spirulina*'nın Geleneksel Tarıma Göre Avantajları

1.2.1.2.1. Yüksek Verim

Spirulina, %70'e varan protein içeriğiyle, birim alan başına soya fasulyesinden 20 kat, mısırdan 40 kat ve sığır etinden 200 kat daha fazla protein üretmektedir (Ahsan ve ark., 2008).

1.2.1.2.2. Toprak Gereksinimi

Spirulina kültürü suda yapıldığı için verimli topraklara gereksinim duymaz. Bu da sınırlı ölçüde olan verimli toprakların kullanımının karasal bitkilere ayrılmasını sağlar (Ahsan ve ark., 2008; Seyhaneyildiz Can ve ark., 2016).

1.2.1.2.3. Su Kullanımı

Spirulina ile 2100 L suda 1 kg protein üretilebilmektedir. Bu oran diğer ürünler ile karşılaştırıldığında oldukça verimlidir. Ayrıca üretim için kullanılan suyun büyük bölümü tekrar kullanılabilir. Su kaybı sadece bir miktar buharlaşma yolu ile olmaktadır. *Spirulina* kültürü için kullanılan su; soya için kullanılan suyun %25'i, mısır için kullanılan suyun %17'si ve sığır eti proteini için kullanılan suyun %2'si kadardır. Ayrıca diğer ürünlerin üretimi için uygun olmayan acı ve tuzlu su *Spirulina* üretimi için rahatlıkla kullanılabilir (Ahsan ve ark., 2008).

1.2.1.2.4. Enerji Verimliliği

Spirulina, güneş ve üretilen enerji de dahil olmak üzere kilo başına soya, mısır ve sığır etinden daha az enerji gereksinimi ile üretilebilmektedir. Enerji verimliliği soyadan 5 kat, mısırdan 2 kat daha yüksek ve tahıl beslenen diğer protein ürünlerinden 100 kat daha fazladır (Ahsan ve ark., 2008).

1.2.1.3. *Spirulina*'nın Küçük Ölçekli Ticari Üretimi

Spirulina'nın küçük ölçekli üretimi, hane halkı veya köy kolektifleri için potansiyel gelir getirici faaliyet olarak kabul edilmektedir. *Spirulina*, özellikle beslenmenin zayıf olduğu, gıda kıtlığı çeken bölgeler için de yerel olarak üretilebilecek bir üründür (URL-3). Ayrıca, karasal ve suda yapılan hayvansal üretimde yem olarak kullanılmak üzere *Spirulina* üretimi yapılabilir (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Küçük ölçekli *Spirulina* üretimi (URL-3).

1949 gibi erken bir zamanda Spoehr ve Milner (1949), alg kültürünün küresel protein kıtlıklarının üstesinden gelmeye yardımcı olacağını söylemiş, fakat ne yazık ki dünyanın pek çok yerinde kişi başına düşen protein miktarı çok yetersiz olmasına rağmen bu fikir yeterince ilgi görmemiştir. Fakat Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP), mikrobiyolojik merkezler (MIRCENS) tarafından yapılacak bir program aracılığıyla azot fiksasyonunu ile besin döngüsünün sağlanabileceğini vurgulamış, bu döngü içinde mikroalglerin çok önemli roller üstleneceğini bildirmişlerdir. Bu da algal biyoteknolojiye olan ilgiyi artırmıştır.

Spirulina, akış hızının 10 cm/sn olduğu kanallarda rahatlıkla üretilebilecek kadar basit bir teknolojiye ihtiyaç duyar. Karıştırma, rüzgar enerjisi veya pedallı basit düzeneklerle sağlanabilir. Hasat uygun bir bez kullanılarak kolayca gerçekleştirilebilir. Bu şekilde yarı kontrollü gerçekleştirilen üretim tam kontrollü ortamda yapılan kadar verimli olmaz, ama kaliteli bir hayvan yemi olarak rahatlıkla kullanılabilir.

Fox (1985), gelişmekte olan ülkelerde ki küçük yerleşim yerleri için atıksuda *Spirulina* üreterek biyoyakıt dönüştürme fikrini öne sürmüştür. Bu fikre göre evsel atıklarda üretilecek agler hasat edilerek kurutulacak ve o bölge halkına verilecekti. Ancak bu fikir atık suda üretilen alglerin halk sağlığını tehlikeye atacak olması nedeniyle uygulanmamıştır. Fakat temiz suda yetiştirilen algler özellikle besin kıtlığının olduğu bölgeler için oldukça avantajlıdır.

Bangladeş'te, *Spirulina* 1980'lerde BCSIR (Bangladeş Bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Konseyi) kampüsünde şeffaf gölgelikli bir yerde pedal sistemi kullanılarak pilot bir proje ile üretilmiştir. Daha sonra bu yöntem ülkenin kırsal bölgelerine uyarlanmaya çalışılmıştır (Ahsan ve ark., 2008).

Hindistan'da, Chennai'deki “Murugappa Chettiar Araştırma Merkezi”, üretim teknolojisini daha da geliştirerek kırsal bölgelerde büyük ölçüde başarı sağlamıştır. Çamurdan oluşan kaplar ağızları açık kalacak şekilde toprağa gömülmüş içine 2-3 gr deniz tuzu veya potasyum dihidrojen fosfat, soda ve sodyum klorit eklenerek *Spirulina* ekilmiş ve günde 3-4 kez karıştırılmıştır. 3-4 gün güneş ışığına maruz kalan algler yeterli yoğunluğa ulaştıktan sonra bir bez yardımı ile hasat edilmiş ve su ile yıkanarak kimyasallardan arındırılmıştır. Daha sonra doğrudan hamur, erişte, bakliyat gibi gıdalarla karıştırılarak tüketime hazır hale getirilmiştir (Ahsan ve ark., 2008).

Bu gibi küçük ölçekli üretimde yer alan en büyük maliyet, besin ortamıdır. Raof ve ark., (2006), *Spirulina* sp. üretimi için standart Zarrouk ortamında bulunan bazı kimyasallar yerine daha uygun maliyetli alternatif kimyasalları kullanarak bir çalışma yapmışlar ve yeni besin ortamı litreye 1.25 g süper fosfat, 2.5 g sodyum nitrat 0.98 g potasyum, 0.5 g sodyum klorür, 0.15 g magnezyum sülfat, 0.04 g kalsiyum klorür, 8 g sodyum bikarbonat eklenerek hazırlanmıştır. Alg 30 ± 1 °C'de ve 50 mmol foton/m²/s beyaz ışık ile aydınlatma sağlanarak kültüre alınmıştır. Normal Zarrouk ortamında 6-9. günler arasında kaydedilmiş maksimum büyüme 0.114, maksimum klorofil 0.003 ve maksimum protein 0.068 iken yeni hazırlanan kültür ortamındaki maksimum büyüme 0.112, maksimum klorofil 0.003 ve maksimum protein 0.069 bulunmuştur. Sonuçlara bakıldığında her iki ortamda da yetiştirilen *Spirulina*'nın besin değerleri açısından önemli bir fark olmadığı fakat maliyet açısından incelendiğinde 1000 L'lik normal Zarrouk ortamı için 79.5 \$'a ihtiyaç duyulurken yeni ortam için 16.0 \$ harcanmıştır. Bu çalışma ile Raof ve ark., (2006) protein bakımından zengin *Spirulina*'ların, revize edilen yeni ortam ile kırsal nüfus tarafından büyük ölçekli üretimi için ekonomik bir şekilde yapılabileceğini göstermiştir.

1.2.1.3. *Spirulina*'nın Ticari ve Yoğun Üretimi

Spirulina yıllık 10.000 ton üretim miktarı ile dünyada en fazla üretilen ekonomik olarak önemli bir alg türüdür (Zhang ve ark., 2005). İçeriğindeki fikosiyenin, esansiyel amino asitler, polisakaritler, karotenoidler, mineraller, vitaminler, esansiyel yağ asitleri ve protein bakımından zenginliği ile *Spirulina* ideal bir biyo-kaynak olarak kabul edilmiş ve son yıllarda üzerine olan ilgi artmıştır (Moris ve ark., 2001; Kawata ve ark., 2004; Chen ve ark., 2006). *S. platensis*, bir protein, vitamin, esansiyel amino asit ve yağ asidi kaynağı

olarak ticari önemi nedeniyle büyük ölçüde çalışılmasına rağmen son yıllarda potansiyel bir ilaç kaynağı olarak ilgi çekmeye başlamıştır. Ayrıca klorofil içeriğinin yüksek olması ve kültürünün diğer alglere oranla daha kolay yapılması, yüksek pH toleransı, hasatının kolay olması, kolay sindirebilir bir hücre duvarına sahip olması *Spirulina*'yı daha cazip hale getirmiştir (Chen ve ark., 1996; Zhang ve ark., 1999).

Spirulina'nın yoğun kültürü genellikle karıştırmak için pedal sisteminin kullanıldığı raceway tipi sığ havuzlarda yapılır. İki tip raceway tipi açık havuz vardır. Bunlardan birincisi betondan diğeri ise polivinil klorürden yapılır (Vonshak ve Richmond, 1988). Ticari üretim için yapılan havuzların yüzeyi 0.1-0.5 hektar arasında değişmektedir ve kültürün derinliği genellikle 15-18 cm olacak şekilde havuzun derinliği ayarlanır. Yaygın olarak kullanılan pedallar, çapı 2 m olan 10 rpm hızına sahip büyük pedallar veya çapı 0.7 m olan, hızı da büyük pedala göre 2-3 kat daha fazla olan küçük pedallardır. Pedallarla karıştmanın sağlandığı düzeneğin en önemli problemi, bütün alglere eşit miktarda ışık yayabilecek kadar bir karıştmanın sağlanamamasıdır. Bu nedenle, sığ havuzlarda veya havuzun dönüş yaptığı yollarda türbülansı ve dolayısıyla fotosentetik verimliliği arttırmak için başka araçlar kullanılmıştır (Vonshak ve Richmond, 1988).

1.3. *Spirulina*'nın İnsanlar, Balık ve Diğer Hayvanlar İçin Kullanımı ve Faydaları

1.3.1. *Spirulina*'nın İnsanlar Tarafından Kullanımı

Klinik çalışmalar, *Spirulina*'nın birçok hastalığın tedavisi için destekleyici bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. *Spirulina* kapsülleri, kandaki lipit seviyesinin düşürülmesinde, radyoterapi ve kemoterapiden sonra beyaz kan hücrelerinin azaltılmasından dolayı zayıflayan immünolojik fonksiyonun geliştirilmesinde etkili oldukları bir çok çalışma ile kanıtlanmıştır (Ruan ve ark., 1988; Ruan ve ark., 1990).

Spirulina, yüksek kaliteli protein, vitamin, mineral ve biyolojik olarak aktif birçok madde bakımından zengindir (Becker, 1994). Hücre duvarı yüzde 86 sindirilebilirliğe sahip polisakkaritlerden oluştuğundan insan vücudu tarafından kolayca emilebilmektedir.

Spirulina hücreleri toz haline dönüştürülerek çorba, sos, makarna, atıştırmalık yiyecekler, hazır içecekler gibi bir çok gıda ürününe eklenerek kullanılabilir. *Spirulina*'yı gıda ürünlerine dahil etme fikri Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Earthrise Farms ile

ilişkili bir pazarlama şirketi olan Proteus tarafından başlatılmıştır (Vonshak, 1990). Ayrıca peynir, yoğurt ve tofu gibi fermente edilmiş yiyeceklerin hazırlanmasında alternative olarak *Spirulina* kullanılabilir. *Spirulina* ayrıca diğer malzemelerle birlikte yemek hazırlamak için de kullanılır. Örneğin, hazır erişte, şık erişte, besleyici bloklar, içecekler ve kurabiyeler. İlk üç gıda maddesi, 10-14 yaş öğrenciler için öğle yemeği olarak önerilmektedir. *Spirulina* protein açısından zengin olduğu için diğer protein ürünleri yerine bebek mamalarına ilave edilerekte kullanılabilir. Meksika'da kötü beslenen bebeklerin mamalarına katılan günlük 10 g *Spirulina* bebeklerin daha hızlı gelişmesini sağlamıştır. Meksika, Japonya, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa ülkelerine *Spirulina* tozu konusunda ana ithalatçı konumundadır (Henrikson, 1989).

1.3.2. *Spirulina*'nın Gübre Olarak Kullanımı

1981'de FAO, kimyasal gübreler sebebiyle zarar görmüş toprakların mavi-yeşil alg kaynaklı gübrelerle yeniden verimli hale geldiğini belgelendirmişlerdir (FAO, 1981). Sığ toprak havuzlarda yetiştirilen mavi-yeşil alglerin suyu buharlaştırılıp, kurutulduktan sonra algler toplanır ve gübre olarak kullanılabilir. Bu şekilde alglerin gübre olarak kullanılması Hindistan'da pirinç üretiminde uygulanmış ve kimyasal gübrenin sadece üçte birine denk gelen bir maliyetle yıllık pirinç verimi ortalama %22 oranında artmıştır. *Spirulina* bazlı gübreler, daha verimli ve daha düşük maliyetli olmasına rağmen, kolay bulunabildiği için inorganik gübrelerin kullanımının önüne geçilememektedir (Ahsan ve ark., 2008).

1.3.3. Hayvan Yemlerinde Protein Takviyesi Olarak Kullanımı

Balık, kümes hayvanları, sığır ve evcil hayvanların diyetlerinin hazırlanmasında *Spirulina*, balık unu, yer fıstığı unu ve soya unu yerine kullanılabilir (Venkataraman ve ark., 1994; El- Sayed, 1994; Britz, 1996). Becker (1994), balık unu ve yer fıstığı unu olmak üzere iki protein kaynağını içeren yemlerle ve *Spirulina* katkılı yemlerle civcivleri beslemiştir. Çalışmanın sonunda *Spirulina* katkılı yem ile beslenen civcivlerin daha yoğun renkli olduğu gözlenmiştir.

1.3.4. Renklendirici Olarak Kullanımı

Spirulina'nın mavi-yeşil rengi fikosiyenin (mavi) ve klorofil (yeşil) olmak üzere iki pigmente bağlıdır. Bu iki pigment karotenoidler (kırmızı, turuncu ve sarı) olarak bilinen başka bir pigment grupları ile birleşebilir. *Spirulina*'dan ekstrakte edilen fikosiyenin, ilk olarak 1980'de Dainippon Ink ve Chemicals Inc. tarafından "Lina Blue-A" markası altında pazarlanmıştır. Elde edilen ürün dondurmalarda ve kozmetik endüstrisinde doğal boya maddesi olarak kullanılmıştır. Bununla birlikte, pigment ışığa duyarlı olduğundan, beyazlamadan korunmasına dikkat edilmesi gerekmektedir (Vonshak, 1990). Fikosiyenin piyasasının yılda en fazla 6 ton olabileceği yönündedir. Bu oldukça küçük bir rakamdır. Yapılan hesaplamalara göre, 200 m³'lük bir gölet alanında üretilen ayda 100 kg kuru *Spirulina*'dan 60 kg ham protein çıkarılabilmekte ve bu miktarın ancak 1-3 kg fikosiyaninden oluşmaktadır. *Spirulina*'da fikosiyenin yanı sıra az miktarda enzim ve sitokrom, 1-2 kg klorofil, 100-200 g ksantofil, 100-200 g β-karoten bulunur (Olguín, 1986).

1.3.5. Prebiyotik-Probiyotik

Probiyotikler, yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık açısından bir çok fayda sağlayan farklı gruplara sahip canlı mikroorganizmalardır. Prebiyotik ise kolondaki sınırlı sayıda bakterinin büyümesini veya aktivitesini seçici olarak uyararak, konakçıyı olumlu yönde etkileyen sindirilemez bir diyet maddesi olarak tanımlanmıştır (Floch, 2014).

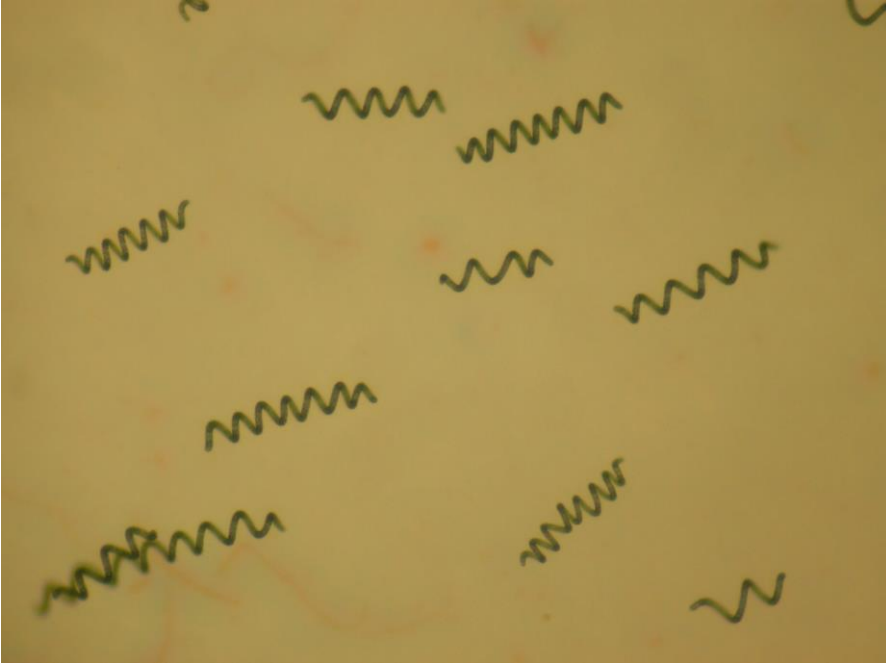
Bu tez çalışmasında insan sağlığı için son derece önemli olan probiyotik-prebiyotik ürünlerin alglerin gelişimine ve besin içeriğine katkısı araştırılmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Deneysel Tür

Çalışma için kullanılan *S. platensis* Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nden temin edilmiştir (Şekil 2.1). Sistematikteki yeri aşağıdaki gibidir;

Phylum : Cyanophyta
Classis : Cyanophyceae
Ordo : Oscillatoriales
Familia : Phormidiaceae
Genus : *Spirulina* (*Arthrospira*)
Tür : *Spirulina platensis*



Şekil 2.1. *S. platensis* (Orijinal).

2.2. *S. platensis*'in Kültüre Alındığı Besin Ortamı

Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nden temin edilen *S. platensis* denemelere başlayana kadar agarlı besin ortamında kültüre alınarak istenmeyen farklı organizmalardan arındırılmıştır. Bu izolasyon işleminden sonra Zarrouk ortamı (Tablo 2.1) ilave edilmiş 20 ml'lik deney tüpleri hazırlanmıştır.

Tablo 2.1. Zarrouk kültür ortamı (Zarrouk, 1966).

Kimyasal Bileşik	Miktar (g)
NaHCO ₃	16
K ₂ HPO ₄	0.5
NaNO ₃	2.5
K ₂ SO ₄	1
NaCl	1
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.2
CaCl ₂	0.04
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01
Na ₂ EDTA	0.08

2.3. Besin Ortamlarının Sterilizasyonu

Hazırlanan besin ortamları 20 mL'lik tüplere 10 ar mL olacak şekilde konulmuştur. Üretilen algal kültürlerin herhangi bir kontaminasyona maruz kalmaması için besin ortamları 121 °C ve 1 atmosfer buhar basıncında, 15 dakika otoklavlanarak (Tomy SX-500E) sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besin ortamları oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır.

2.3. Besin Ortamlarına Alg Ekimi

Agarlı besin ortamında bulunan *S. platensis* ekim kabini steril öze kullanılarak soğutulan besin ortamlarına ekilmiştir. Ekimin ardından algler üremesi için sıcaklığı 30 °C'ye ayarlanmış olan alg kültür laboratuvarına alınmıştır. Alg kültür laboratuvarında üretim periyodu boyunca günde üç defa çalkalanarak alglerin dibe çökmesi engellenmiştir. Üç haftalık üretim periyodunun ardından yine Zarrouk besin ortamı üç adet 500 ml'lik erlene 300 ml olacak şekilde hazırlanmış ve aynı şekilde otoklavlanmıştır. Besin ortamları soğutulduktan sonra pH'ları ölçülmüştür (pH:9.5). pH ölçümünün ardından tüplerde bulunan algler erlenlere inoküle edilmiş ve alg laboratuvarında 2000 lux sürekli aydınlatmada ve 30 °C'de üç hafta boyunca denemeler için yoğunlaştırılmıştır.

2.4. Deneme Ortamları

Bu çalışma, içerisinde probiyotik bakterilerden *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium thermophilum* ve *Leuconostoc mesenteroides*'in, probiyotik olarak ise beta-glukan ve oligosakkarid karışımının bulunduğu bir ürünün *S. platensis*'e olan etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Üç hafta boyunca yoğunlaştırılan algler Probiyotik-Prebiyotik ürün ile zenginleştirilmiş olan Zarrouk besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Bunun için 1 litrelik erlenlere 500 mL olacak şekilde Zarrouk besin ortamı konulmuş ve kültür ortamları 121 °C, 1 atmosfer buhar basıncında 15 dakika otoklavlanmıştır. Otoklavdan çıkarıldıktan sonra oda sıcaklığında soğutulan besin ortamlarına 0.01, 0.05, 0.1 mL/L olmak üzere Probiyotik-Prebiyotik ürün ilave edilmiştir. Ayrıca Probiyotik-Prebiyotik ürünün ilave edilmediği kontrol grupları da hazırlanmıştır. Her bir deneme üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Hazırlanan her bir erlene 10 mL alg ekimi yapılmıştır. Denemeler Probiyotik-Prebiyotik ürünün farklı sıcaklıkta ve farklı aydınlatmada alglere olan etkisini belirlemek amacıyla farklı ortamlarda yapılmıştır.

2.4.1. 20 °C ve 1600 Lux Aydınlatmada Yapılan *S. platensis* Kültürü

İlk deneme için 20 °C ve 1600 lux aydınlatma kullanılmıştır (Şekil 2.2). Aydınlatma için 12 saat karanlık 12 saat aydınlık periyot uygulanmıştır. 20 gün süren denemeler boyunca günlük olarak hep aynı saatte olmak üzere alglerin biyomasları, optima

marka SP-3000nano UV- spektrofotometre kullanarak, 680 nm'de optik yoğunluk ölçülerek takip edilmiştir.



Şekil 2.2. 20 °C'de 1600 lux aydınlatmada kültüre alınan *S. platensis*.

2.4.2. 20 °C ve 3200 Lux Aydınlatmada Yapılan *S. platensis* Kültürü

İkinci deneme için 20 °C ve 3200 lux aydınlatma kullanılmıştır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. 20 °C'de 3200 lux aydınlatmada kültüre alınan *S. platensis*.

2.4.3. 40 °C ve 1600 Lux Aydınlatmada Yapılan *S. platensis* Kùltürü

Üçüncü deneme için 40 °C ve 1600 lux aydınlatma kullanılmıştır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. 40 °C’de 1600 lux aydınlatmada kùltüre alınan *S. platensis*.

2.4.4. 40 °C ve 3200 Lux Aydınlatmada Yapılan *S. platensis* Kùltürü

Dördüncü deneme için 40 °C ve 3200 lux aydınlatma kullanılmıştır (Şekil 2.5).

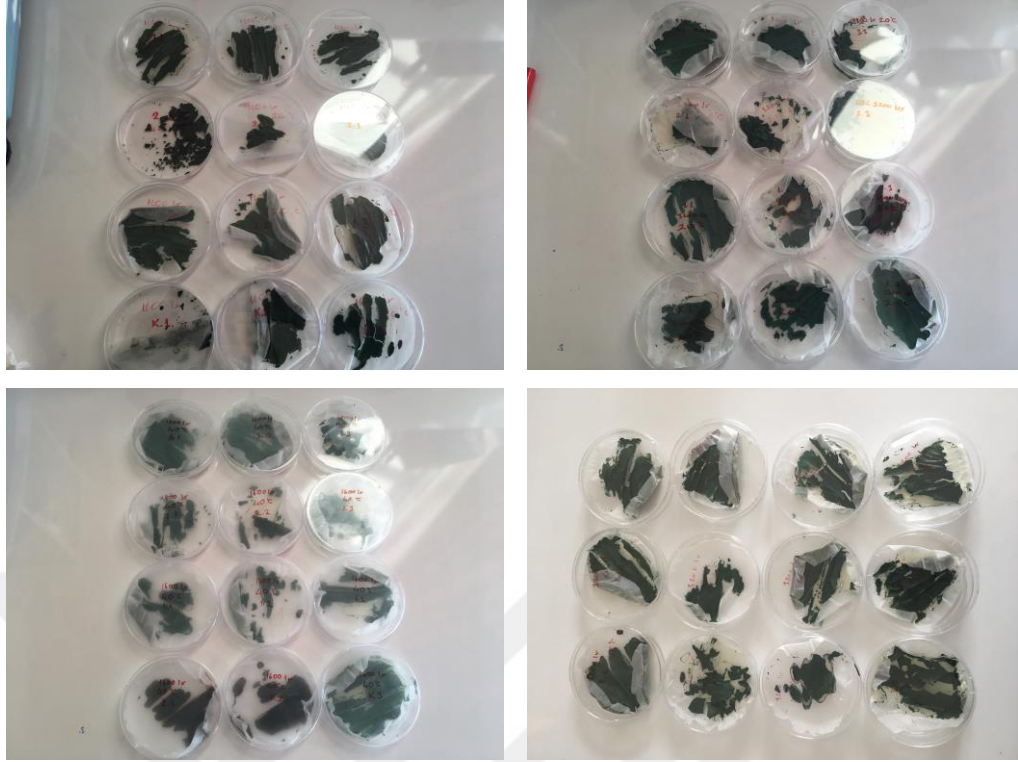


Şekil 2.5. 40 °C’de 3200 lux aydınlatmada kùltüre alınan *S. platensis*.

20 gün boyunca biyomas gelişimleri takip edildikten sonra algler en az 1 g'lık kuru ağırlığa sahip biyomas elde edilinceye kadar çoğaltılmıştır. Yeterli biyomas elde edildikten sonra algler plankton bezi yardımı ile süzülerek kurutulmuş ve -18 °C'de analiz için saklanmıştır (şekil 2.6 ve şekil 2.7).



şekil 2.6. Alglerin plankton bezi ile szlmesi.



Şekil 2.7. 20 °C’de 1600/3200 lux aydınlatmada ve 40 °C’de 1600/3200 lux aydınlatmada yetiştirilen kurutulmuş algler.

Kurutulan algler toz haline getirildikten sonra prebiyotik-probiyotik ürünün alglerin protein içeriğine etkisinin olup olmadığını incelemek için Kjeldahl metodu ile protein analizi yapılmıştır.

2.5. Kjeldahl Metodu ile Protein Analizi

Ham protein analizinde kullanılmak üzere kurutulmuş alglerden 0.32 g tartılmış ve tartılan bu örneklerin 2 tanesi kör olmak üzere Kjeldahl cihazının tüplerine alınmıştır. Her bir tüpe 1’er adet katalizör tablet (1,5 g K_2SO_4 + 7,5 mg Selenyum karışımı) atılmış ve üzerine 6 ml sülfirik asit (H_2SO_4) ve 1 ml hidrojen peroksit (H_2O_2) eklenmiştir. Hazırlanan örnekler yakma ünitesinde 420 °C’ de yaklaşık 3 saat süreyle, tüpler içerisindeki örnekler yeşil-sarı bir renk alıncaya kadar yakılmış, daha sonra örnekler oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur (Şekil 2.8)



Şekil 2.8. Yakma ünitesinde yakılan ve oda sıcaklığında soğutulan örnekler.

Distilasyon işlemi için, %40'lık 40 ml NaOH ve %4'lük 20 ml borik asit ve 20 ml saf su kullanılmıştır. Bu solüsyonlar ve saf su ayrı bidonlar içerisinde Kjeldahl cihazına hortumla bağlanmıştır. Distilasyon işlemi başladığında cihaz NaOH solüsyonunu ve borik asit solüsyonunu otomatik olarak alıp örneği distile etmiştir. Distilasyon işlemi en az 100 °C'de gerçekleşmiştir. Distilasyon sırasında destilat yakalama kısmına 2 damla indikatör (metil kırmızısı) damlatılan erlen yerleştirilmiş ve erlene yaklaşık 150 ml sıvı birikinceye kadar (10 dakika) işleme devam edilmiştir (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Distilasyon ve titrasyon işlemi.

Örnekler daha sonra 0.1 N HCl ile titre edilerek % protein oranı hesaplanmıştır (AOAC, 1990). Hesaplama Johan Kjeldahl tarafından geliştirilmiş olan aşağıdaki formüle göre yapılmıştır (Kjeldahl, 1883).

(2.1)

$$\%Azot = \frac{(V_1 - V_0) \times N \times 0.014}{m} \times 100 = \dots \text{gr}/100\text{gr}$$

$$\%Protein = \%Azot \times 6.25$$

- V_1 :Örnek için harcanan 0.1 N HCl
 V_2 :Kör için harcanan 0.1 N HCl
 m :Örneğin gram olarak ağırlığı
 N :0,1 N HCl
14 :Nitrojen atomunun ağırlığını
6,25 :Protein için kullanılan katsayıyı belirtmektedir.

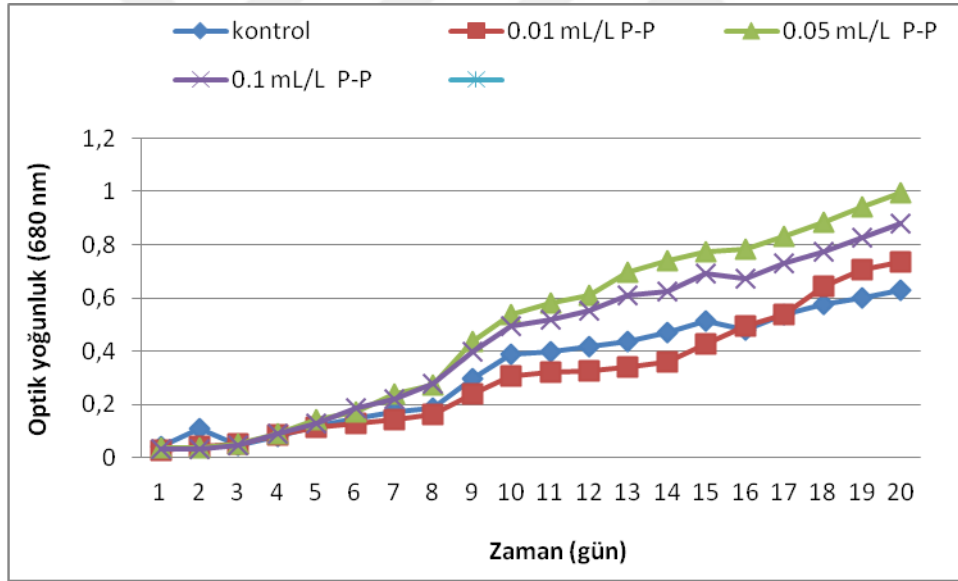
2.6. İstatistiksel Analizler

Çalışmaya ait optik yoğunluk verileri SPSS istatistik programında bulunan ANOVA ile değerlendirilmiş, gruplar arasında istatistik yönünden farklılığın olup olmadığını belirlemek için de Duncan'ın çoklu karşılaştırma metodu uygulanmıştır. Tüm sonuçlar ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

3. BULGULAR

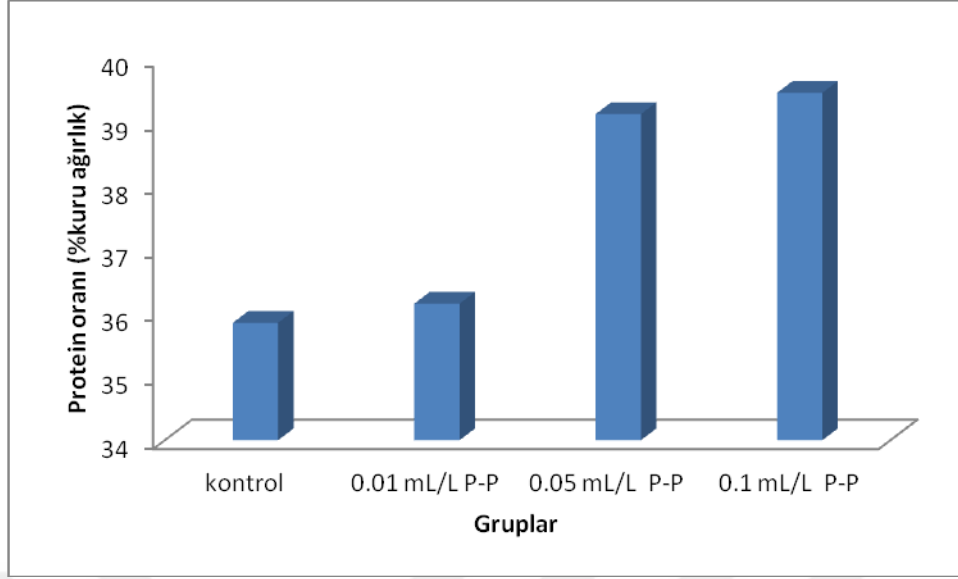
3.1. 20 °C ve 1600 Lux Aydınlatmada Yapılan *S. platensis* Kültürü

20 günlük deneme sonunda 20 °C ve 1600 lux 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyot kullanılarak kültüre alınmış *S. platensis*'in optik yoğunluk grafiği incelendiği zaman, kontrol grubunun optik yoğunluğunun 0.039'dan 0.628'e çıktığı ve 0.589'luk bir artış olduğu söylenir. Bu değer içeriğinde 0.01 mL/L P-P olan besin ortamı için 0.707, 0.05 mL/L P-P olan besin ortamı için 0.955 ve içeriğinde 0.1 mL/L P-P olan besin ortamı için 0.848 olarak bulunmuştur. Bu verilere göre en iyi biyomas artışının 0.05 mL/L P-P ürün eklenen deneme ortamında olduğu görülmüştür (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. 20 °C ve 1600 lux aydınlatma yapılan *S. platensis*'in optik yoğunluğu.

20 °C ve 1600 lux aydınlatma yapılan kültürden elde edilen biyomasın protein içeriği incelendiğinde, en yüksek protein içeriğinin ortalama %39.45 ile 0.1 mL/L P-P eklenen grupta olduğu görülmüştür (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. 20 °C ve 1600 lux aydınlatma yapılan *S. platensis*'in protein oranı.

20 °C ve 1600 lux aydınlatma yapılan *S. platensis* kültüründen elde edilen biyomasın optik yoğunluk ve kuru ağırlık olarak üzerinden % protein içeriği ile ilgili istatistiksel veriler tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. 20 °C ve 1600 lux aydınlatma yapılan *S. platensis*'in optik yoğunluk ve kuru ağırlık ile ilgili istatistiksel veriler

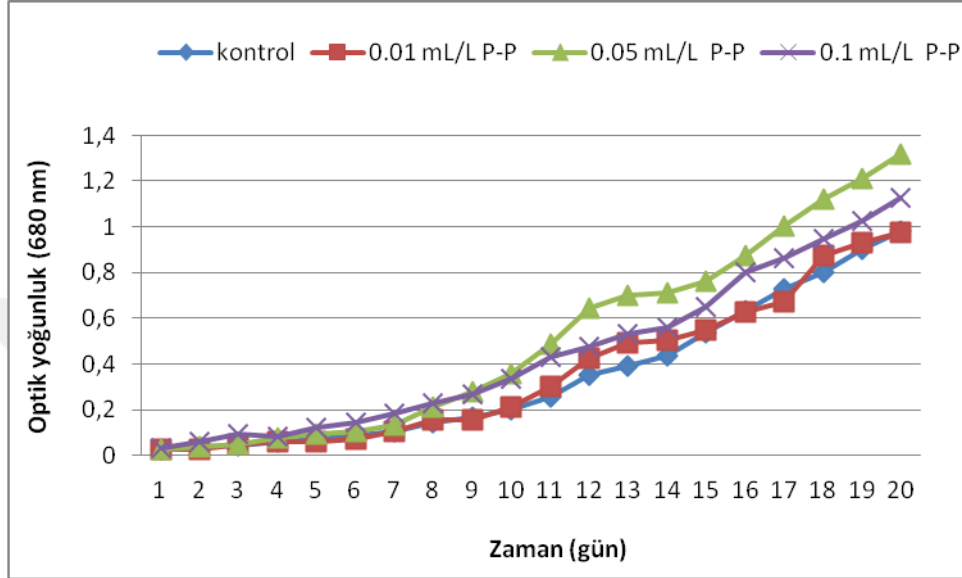
Gruplar	Optik yoğunluk	Protein miktarı (% kuru ağırlık)
Kontrol	0.3317 ^b ± 0.2022	35.8433 ^b ± 0.1193
0.01 mL/L P-P	0.3095 ^b ± 0.2195	36.1433 ^b ± 0.2873
0.05 mL/L P-P	0.4922 ^a ± 0.3284	39.1200 ^a ± 0.7709
0.1 mL/L P-P	0.4390 ^a ± 0.2861	39.4533 ^a ± 0.0777

^{a,b} harfleri aynı sütun içindeki farklılıkların istatistiksel önemliliğini göstermektedir (p<0.05)

3.2. 20 °C ve 3200 Lux Aydınlatma Yapılan *S. platensis* Kültürü

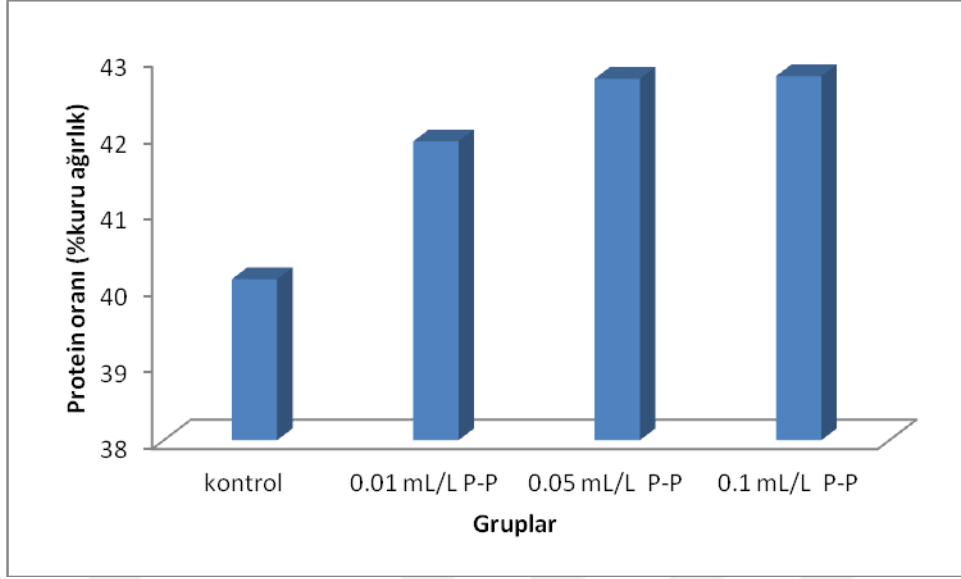
20 °C ve 3200 lux 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyotta yapılan kültürün optik yoğunluk grafiği incelendiğinde, kontrol grubunun optik yoğunluğundaki artışın 0.957,

0.01 mL/L P-P olan besin ortamı için 0.947, 0.05 mL/L P-P olan besin ortamı için 1.291 ve içeriğinde 0.1 mL/L P-P olan besin ortamı için 1.099 olarak bulunmuştur. Bu verilere göre en iyi biyomas artışının 3200 lux aydınlatmada da 0.05 mL/L P-P ürün eklenen deneme ortamında olduğu görülmüştür (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. 20 °C ve 3200 lux aydınlatma yapılan *S. platensis*'in optik yoğunluğu.

20 °C ve 3200 lux aydınlatma yapılan kültürden elde edilen biyomasın protein içeriği incelendiğinde, en yüksek protein içeriğinin ortalama %42.76 ile 0.1 mL/L P-P eklenen grupta olduğu görülmüştür (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. 20 °C ve 3200 lux aydınlatma yapılan *S. platensis*'in protein oranı.

20 °C ve 3200 lux aydınlatma yapılan *S. platensis* kültüründen elde edilen biyomasın optik yoğunluk ve kuru ağırlık olarak üzerinden % protein içeriği ile ilgili istatistiksel veriler tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. 20 °C ve 3200 lux aydınlatma yapılan *S. platensis*'in optik yoğunluk ve kuru ağırlık ile ilgili istatistiksel veriler.

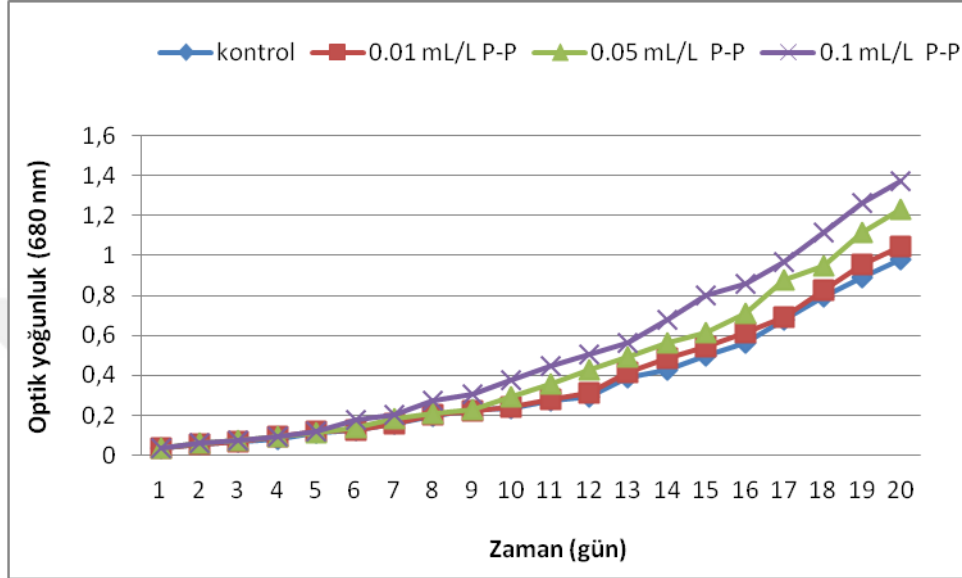
Gruplar	Optik yoğunluk	Protein miktarı (% kuru ağırlık)
Kontrol	0.3474 ^b ± 0.3090	40.1067 ^c ± 0.8392
0.01 mL/L P-P	0.3630 ^b ± 0.3166	41.9200 ^b ± 0.1709
0.05 mL/L P-P	0.5100 ^a ± 0.4256	42.7300 ^a ± 0.1732
0.1 mL/L P-P	0.4492 ^{ab} ± 0.3451	42.7633 ^a ± 0.5859

^{a,b,c} harfleri aynı sütun içindeki farklılıkların istatistiksel önemliliğini göstermektedir (p<0.05).

3.3. 40 °C ve 1600 Lux Aydınlatma Yapılan *S. platensis* Kültürü

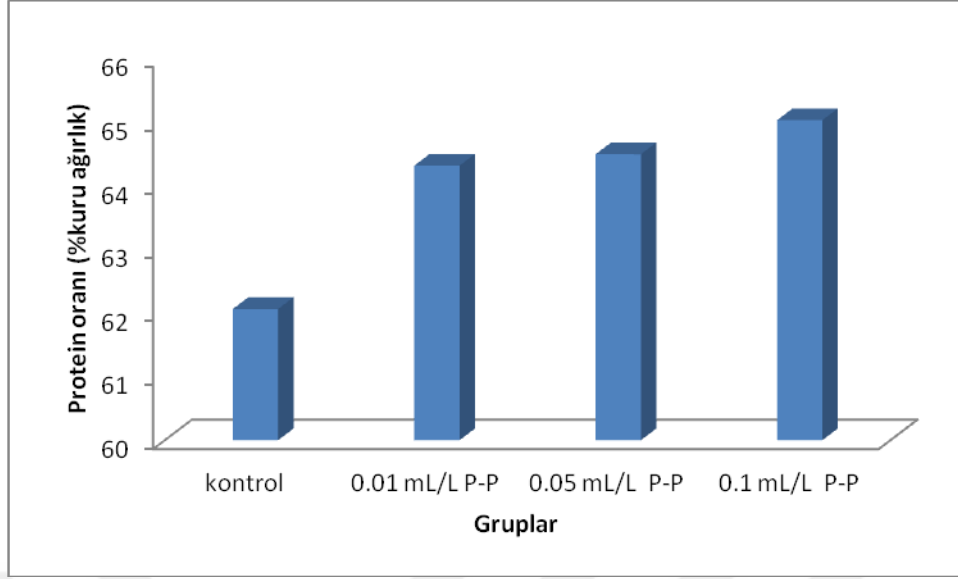
40 °C ve 1600 lux 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyotta yapılan kültürün optik yoğunluk grafiği incelendiğinde, kontrol grubunun optik yoğunluğundaki artışın 0.946,

0.01 mL/L P-P olan besin ortamı için 1.013, 0.05 mL/L P-P olan besin ortamı için 1.198 ve içeriğinde 0.1 mL/L P-P olan besin ortamı için 1.339 olarak bulunmuştur. Bu verilere göre en iyi biyomas artışının 0.1 mL/L P-P ürün eklenen deneme ortamında olduğu görülmüştür (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. 40 °C ve 1600 lux aydınlatma yapılan *S. platensis*'in optik yoğunluğu.

40 °C ve 1600 lux aydınlatma yapılan kültürden elde edilen biyomasın protein içeriği incelendiğinde, en yüksek protein içeriğinin ortalama %65.02 ile 0.1 mL/L P-P eklenen grupta olduğu görülmüştür (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. 40 °C ve 1600 lux aydınlatma yapılan *S. platensis*'in protein oranı.

40 °C ve 1600 lux aydınlatma yapılan *S. platensis* kültüründen elde edilen biyomasın optik yoğunluk ve kuru ağırlık olarak üzerinden % protein içeriği ile ilgili istatistiksel veriler tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.3. 40 °C ve 1600 lux aydınlatma yapılan *S. platensis*'in optik yoğunluk ve kuru ağırlık ile ilgili istatistiksel veriler.

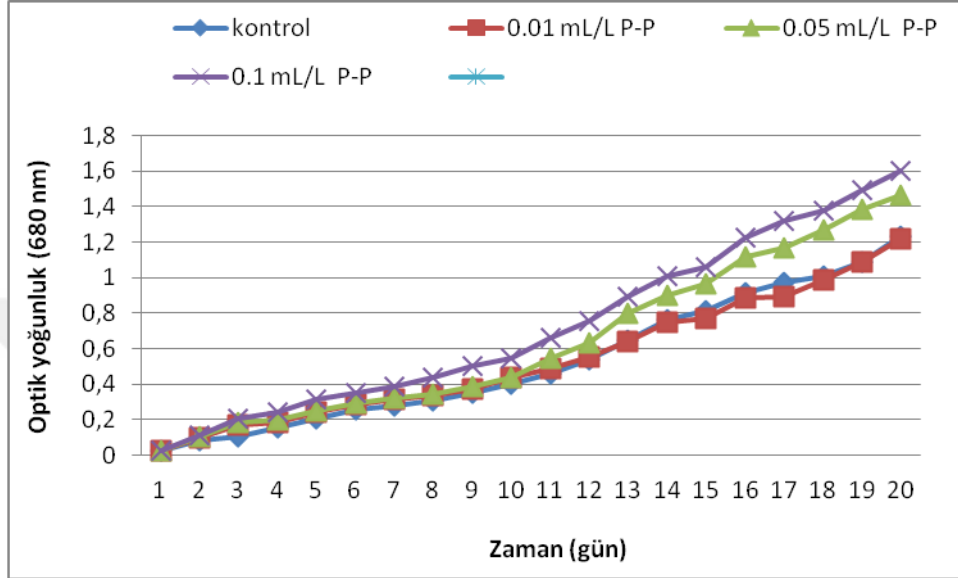
Gruplar	Optik yoğunluk	Protein miktarı (% kuru ağırlık)
Kontrol	0.3543 ^b ± 0.2862	62.0600 ^d ± 0.0888
0.01 mL/L P-P	0.3756 ^b ± 0.3061	64.3100 ^c ± 0.1114
0.05 mL/L P-P	0.4383 ^{ab} ± 0.3636	64.4900 ^b ± 0.1114
0.1 mL/L P-P	0.5146 ^a ± 0.4151	65.0233 ^a ± 0.0611

^{a,b,c,d} harfleri aynı sütun içindeki farklılıkların istatistiksel önemliliğini göstermektedir (p<0.05)

3.4. 40 °C ve 3200 Lux Aydınlatma Yapılan *S. platensis* Kültürü

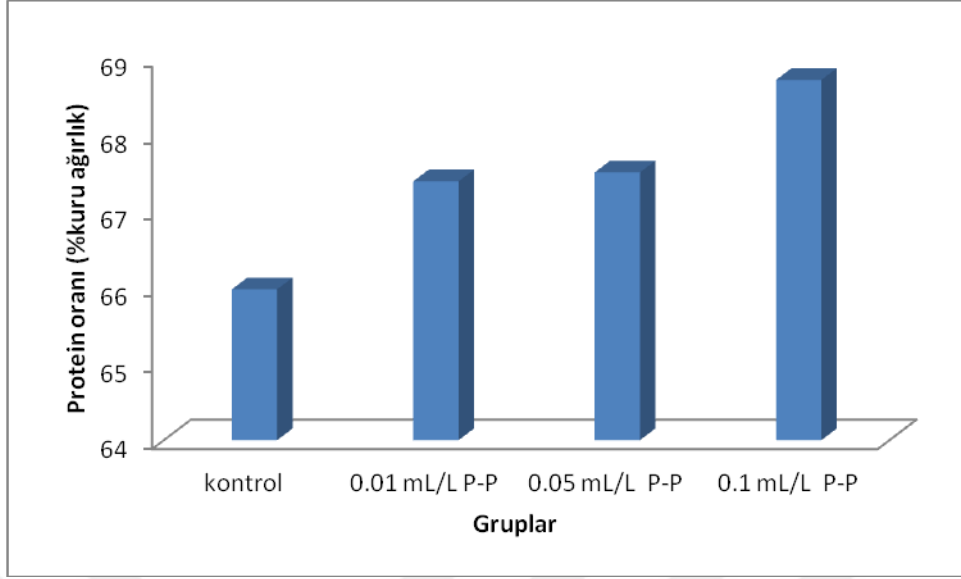
40 °C ve 3200 lux 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyotta yapılan kültürün optik yoğunluk grafiği incelendiğinde ise, kontrol grubunun optik yoğunluğundaki artışın 1.202,

0.01 mL/L P-P olan besin ortamı için 1.192, 0.05 mL/L P-P olan besin ortamı için 1.438 ve içeriğinde 0.1 mL/L P-P olan besin ortamı için 1.569 olarak bulunmuştur. Bu verilere göre en iyi biyomas artışının 1600 lux aydınlatmada olduğu gibi 3200 lux aydınlatmada da 0.1 mL/L P-P ürün eklenen deneme ortamında olduğu görülmüştür (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. 40 °C ve 3200 lux aydınlatma yapılan *S. platensis*'in optik yoğunluğu.

40 °C ve 3200 lux aydınlatma yapılan kültürden elde edilen biyomasın protein içeriği incelendiğinde, en yüksek protein içeriğinin ortalama %68.71 ile 0.1 mL/L P-P eklenen grupta olduğu görülmüştür (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. 40 °C ve 3200 lux aydınlatma yapılan *S. platensis*'in protein oranı.

40 °C ve 3200 lux aydınlatma yapılan *S. platensis* kültüründen elde edilen biyomasın optik yoğunluk ve kuru ağırlık olarak üzerinden % protein içeriği ile ilgili istatistiksel veriler tablo 3.4'te verilmiştir.

Tablo 3.4. 40 °C ve 3200 lux aydınlatma yapılan *S. platensis*'in optik yoğunluk ve kuru ağırlık ile ilgili istatistiksel veriler.

Gruplar	Optik yoğunluk	Protein miktarı (% kuru ağırlık)
Kontrol	0.5309 ^b ± 0.3657	65.9733 ^c ± 0.0351
0.01 mL/L P-P	0.5375 ^b ± 0.3477	67.3867 ^b ± 0.2665
0.05 mL/L P-P	0.6406 ^{ab} ± 0.4492	67.5033 ^b ± 0.0153
0.1 mL/L P-P	0.7270 ^a ± 0.4812	68.7133 ^a ± 0.3050

^{a,b,c} harfleri aynı sütun içindeki farklılıkların istatistiksel önemliliğini göstermektedir (p<0.05).

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

S. platensis daha çok tropikal iklimlerde verimli bir şekilde üreme gösteren bir alg türü olmasına rağmen, Probiyotik-Prebiyotik ürünün verimliliğini denemek amacıyla hem düşük hem de yüksek sıcaklıkta kültür çalışması yapılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda algin protein içeriğinin, mevsimlerden ve değişen ortam faktörlerinden etkilendiği tespit edilmiştir (Tomoselli ve ark., 1988). Yapılan bu çalışmada P-P ürünün algin hem biyomasına hem de protein miktarına etkisi araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre P-P ürününün 20 °C’de ve 1600 ve 3200 lux aydınlatmada yapılan her iki kültürde de 680 nm’de ölçülen en iyi optik yoğunluğun 0.05 ml/L P-P ürünün ilave edildiği besin ortamında olduğu tespit edilmiştir. 20 °C’de ve 1600 lux aydınlatmada yapılan kültürün en iyi optik yoğunluğu 0.4922 ± 0.3284 , 3200 lux aydınlatmada yapılan kültürün optik yoğunluğu ise 0.5100 ± 0.4256 olduğu tespit edilmiştir. Koru ve Cirik (2002) tarafından yapılan araştırmalarda *S. platensis*’in 40°C’ye kadar olan sıcaklıklarda hücrelerin biyokimyasal yapısının bozulmadığı sıcaklık artışı ile fikobiliproteinlerin de arttığı tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında da protein miktarı sıcaklıkla birlikte artmıştır. Ayrıca 20 °C’de yapılan çalışmada 0.05 mL/L P-P ürün ilave edilen besin ortamlarında kültüre alınan alglerin daha iyi büyüme gösterdiği tespit edilmiştir. Bu da ürünün içeriğindeki bakterilerin düşük sıcaklıkta daha verimli çalıştığını düşündürebilir. Fakat protein içeriği incelendiğinde yapılan dört denemede de 0.1 mL/L P-P ürünü ilave edilen grupların protein açısından daha verimli olduğu görülmektedir.

40 °C’de yapılan denemelerde 0.1 mL/L P-P ürün ilave edilen grupta hem biyomas açısından hem de protein açısından elde edilen verim daha yüksektir. 40 °C’de *Spirulina*’nın biyomas gelişimi düşük sıcaklığa oranla zaten yüksek olmaktadır. Bu sonuç daha önce yapılan bir çok çalışmada ispatlanmıştır (Torzillo ve ark., 1984; Tomaselli, 1997; Seyhaneyildiz Can ve ark., 2016). Yapılan bu çalışmada 40 °C’nin üstü denenmemiştir. Fakat P-P ürünü 40 °C’de hem biyoması hem de protein içeriğini artırmıştır. 40 °C’de 1600 lux aydınlatmada yapılan çalışmada en iyi biyomas artışı 0.1 mL/L P-P ilave edilen grupta 0.5146 ± 0.4151 olarak bulunmuştur. Aynı grubun protein içeriği de %65 bulunmuştur. 40 °C’de 3200 lux aydınlatmada yapılan çalışmada ise en iyi biyomas artışı yine 0.1 mL/L P-P ilave edilen grupta 0.7270 ± 0.4812 , aynı grubun protein içeriği de %68.7 bulunmuştur.

Torzillo ve ark., (1984) yaptıkları çalışmalarda protein içeriğinin 40 °C'nin üzerinde düştüğünü söylemektedir. Ancak bu çalışmada ortama verilen P-P ürünü, algin protein içeriğine olumlu yönde etki etmiş, hem düşük sıcaklıkta hem de yüksek sıcaklıkta kontrol grubuna oranla algin protein içeriğini artırmıştır.

Yapılan çalışmalar incelendiğinde alglere probiyotik-prebiyotik uygulamasının örneği bulunmamaktadır. Bununla birlikte alglerden elde edilen bazı polisakkaritler probiyotik olarak kullanılmaktadır. Örneğin *Ascophyllum nodosum* ve *Laminaria* sp. gibi kahverengi alglerden elde edilen laminaran ve fukoidan adı verilen polisakkaritlerin domuz yavrularının mikroflorasında ve bağışıklık sisteminde probiyotik özelliğini artırıcı yönde etki ettiği belirlenmiştir. Ayrıca *Laminaria hyperborea*'dan elde edilen ekstratların kalın bağırsakta laktik asit bakterileri ve *Bifidobacterium* türlerinin gelişmesini olumlu etkilediğini belirlemişlerdir (Reilly ve ark., 2008, O'Doherty ve ark., 2010, Smith ve ark., 2011). Buna benzer birçok çalışma da yine alglerin P-P olarak kullanılması üzerine yapılmıştır. Algere uygulanan P-P ürünlerinin algin gelişimine ve protein içeriğine katkısını belirleyecek herhangi bir çalışma olmaması, yapılan bu çalışmanın özgünlüğü açısından değerlidir.

5. KAYNAKLAR

- Abdulqader, G., Barsanti, L., Tredici, M.R.,** 2000. Harvest of *Arthrospira platensis* from Lake Kossorom (Chad) and its household usage among the Kanembu. *Journal of Applied Phycology*, 12:493–498.
- Abo-Shady, A.M., Abou-El-Souod, S.M., El-Raheem, A., El-Shanshoury, R., Mahmoud, Y.A.G.** 1992. Protoplasts from the cyanobacterium, *Spirulina platensis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 8: 385–386.
- Ahluwalia, A.S., N. Kochar.** 1992. Influence of some heavy metal compounds on the growth of a blue green alga, *Spirulina platensis*. In proc. *Spirulina* ETTA. *National symposium, MCRC*. Madras. s. 22-26.
- Ahsan, M., Habib, M.A.B., Parvin, M., Huntington, T.C., Hasan, M.R.** 2008. A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular*. No. 1034. Rome, FAO. 2008. s. 33.
- AOAC.** 1990. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists 15th edn. *Association of Official Analytical Chemists*, Arlington, VA, s.1298.
- Argaman, Y., E. Spivak.** 1974. Wastewater as source of algae. *Water Resources*, 8: 317.
- Becker, E.W.** 1994. Microalgae. In Nutrition. Cambridge, Cambridge University Press. s. 196–249.
- Bolsunovskii, A.Y., Kosinenko, S.V.** 2000. Intracellular phosphorus pool of the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Mikrobiologiya (Microbiology-Moscow)*, 69: 135–137.
- Borowitzka, M.A.** 1994. Products from algae. In S.M. Phang, L.Y. Kun, M.A. Borowitzka & B.A. Whitton, eds. In *Proc. 1st Asia-Pacific Conference on Algal Biotechnology*. January 1994, Malaysia.
- Britz, P.J.** 1996. The suitability of selected protein sources for inclusion in formulated diets for the South African abalone, *Haliotis midae*. *Aquaculture*, 140: 63–73.
- Chen, F., Zhang, Y.** 1996. High cell density mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose for phycocyanin production using a fed-batch. *Enzyme Microbial Technology*, 20: 221–224.

- Chen, T., Zheng, W., Yang, G.F., Bai, Y., Wong, Y.** 2006. Mixotrophic culture of high selenium enriched *Spirulina platensis* on acetate and the enhanced production of photosynthetic pigments. *Enzyme Microbial Technology*, 139: 103- 107.
- Ciferri, O.** 1983. Spirulina, the Edible Microorganism. *Microbiological Reviews*, 47:551-578.
- Dalay, M.C., İmamoğlu E., Öncel, S.** 2008. Mikroalgal Biyokütle Üretimi için Düşük Maliyetli Fotobiyoreaktör Tasarımı. *TÜBİTAK MAG Proje 104M354*, 2008: s. 1–102.
- Dangeard, P.** 1940. Sur une algue bleue alimentaire pour l'homme: *Arthrospira platensis* (Nordst.) Gomont. *Actes Soc. Linn. Boreaux Extr. Proces-verbaux*, 91:39-41.
- Dubey, R.C.** 2006. A textbook of Biotechnology. Fourth revised and enlarge edition, S. Chand and company limited, s. 419-421.
- El-Sayed, A.F.M.** 1994. Evaluation of soybean meal, spirulina meal and chicken offal meal as protein sources for silver seabream (*Rhabdosargus sarba*) fingerlings. *Aquaculture*, 127: 169–176.
- Falquet, J.** 2000. A sustainable response to malnutrition in hot regions: the local production of spirulina, Geneva, *Antenna Technologies*, 2000, www.antenna.ch
- FAO.** 1981. Blue-green algae for rice production. *FAO Soils Bulletin*. Rome, 1981.
- Floch, M.H.** 2014. Advances in nutrition. *Gastroenterology & Hepatology*, 10:680-681.
- Fox, R.D.** 1985. *Spirulina: The Alga That Can End Malnutrition*. *Futurist*, 19(1):30-35.
- Gabbay, A.R., Tel, O.E., Gresshoff, P.M.** 1993. Mechanisms of salt tolerance in cyanobacteria. Plant Sources to the Environment. *Current Topics in Plant Molecular Biology*, 123–132.
- Gardillo, F.J.L., Jimenez, C., Figuero, F.L., Nlall, X.** 1998. Effects of increased atmospheric CO₂ and supply on photosynthesis, growth and cell composition of the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Journal of Applied Phycology*, 10 (5): 461-469.
- Geitler, L.** 1932. Cyanophyceae. In: *Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz*. Ed. 2. (Rabenhorst, L. Eds) Vol. 14, pp. 673-1196, i-[vi]. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft.
- Guglielmi, G., Rippka, R., Tandeau De Marsac, N.** 1993. Main properties that justify the different taxonomic position of *Spirulina* sp. and *Arthrospira* sp. among cyanobacteria. In F. Doumenge, H. Durand-Chastel & A. Toulemon, eds. *Spiruline algue de vie*. *Bulletin de l'Institut Océanographique Monaco. Musée Océanographique*. Numéro Special, 12:13–23.

- Gupta, R.S., Bajaj, A.** 1983. Halotolerant Blue-green algae and their role as fertilizer. *Advanced Applied Phycology*, 22: 309-321.
- Hamed, I.** 2016. The Evolution and Versatility of Microalgal Biotechnology: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol.15,2016.
- Henrikson, R.** 1989. *Earth food Spirulina*. San Rafael, California, USA, Ronorc Enterprises, Inc.
- Kargın Yılmaz, H., Dikbaş, M.D., Bilgüven, M.** 2016. Siyanobakterilerden Elde Edilen Pigment Maddeleri ve Kullanım Alanları. *Journal of Agricultural Faculty of Uludag University*, 30:139-155.
- Kargın Yılmaz, H., Duru, M.D.** 2011. Syanobakteri *Spirulina platensis*'in Besin Kimyası ve Mikrobiyolojisi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4(1): 31-43, 2011.
- Kawata, Y., Yano K.S.H., Toyomizu, M.** 2004. Transformation of *Spirulina platensis* strain C1 (*Arthrospira* sp.) with Tn5 Transposase - Transposon DNA Cation Liposome Complex. *Marine Biotechnology*, 6: 355-363.
- Kebede, E., Ahlgren, G.** 1996. Optimum growth conditions and light utilization efficiency of *Spirulina platensis* (= *Arthrospira fusiformis*) (Cyanophyta) from Lake Chitu, Ethiopia. *Hydrobiology*, 332: 99–109.
- Sasaki, K., Marquez, F.J., Nishio, N., Nagai, S.** 1995. Promative effect of five amino levulinic acid on the growth and photosynthesis of *Spirulina platensis*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 79 (5): 453-457.
- Kjeldahl, J.** 1883. "Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern" (New method for the determination of nitrogen in organic substances), *Zeitschrift für analytische Chemie*, 22 (1) : 366-383.
- Koru, E., Cirik, S.** 2002. Biochemical composition of *Spirulina* biomass in open-air system. *Proceedings of ICNP*. Trabzon. s. 97-100.
- Léonard, J.** 1966. The 1964-65 Belgian Trans-Saharan expedition. *Nature*, 209: 126-128.
- Li, D.M., Qi, Y.Z.** 1997. Spirulina industry in China: Present status and future prospects. *Journal of Applied Phycology*, 9: 25–28.
- Liu, L.C., Guo, B.J., Ruan, J.S.** 1991. Antitumour activity of polysaccharides extracted from Spirulina. *Oceanography*, 5: 33–37.
- Colla, L.M., Lin, T.E.B., Costa, J.A.V.** 2004. Fatty Acids Profile of *Spirulina platensis* Grown Under Different Temperatures and Nitrogen Concentrations. *Zeitschrift für Naturforschung*, 59: 55-59.
- Maeda, S., Sakaguchi, T.** 1990. Accumulation and detoxification of toxic metal elements by algae. *Introduction to Applied Phycology*, 109–136.

- Golmakani, M.T., Rezaei, K., Mazidi, S., Razavi, S.H.** 2012. γ -Linolenic acid production by *Arthrospira platensis* using different carbon sources. *European Journal of Lipid Science Technology*, 114: 306 – 314.
- Moris, A., Montesinos, J.L., Cusido, J.A., Godia, F.** 2001. Recovery and treatment of *Spirulina platensis* cells cultured in a continuous photobioreactor to be used as food. *Process Biochemistry*, 37: 535-547.
- Nasima Akhtar, M.A., Partin Noor Jahan, A., Hossain, Md.M.** 1996. An integrated culture system for outdoor production of microalgae and cyanobacteria. *Bangladesh Journal of Science and Industrial Research*, 31(1):137-146.
- O'Doherty, J.V., Dillon, S., Figat, S.,** 2010. The effects of lactose inclusion and seaweed extract derived from *Laminaria* spp. on performance, digestibility of diet components and microbial populations in newly weaned pigs. *Animal Feed Science & Technology*, 157: 173-180.
- Ogawa, T., Teuri, G.** 1970. Blue green algae *Spirulina*. *Journal of Fermentation Technology*, 48:361.
- Ogawa, T., Teuri, G.** 1972. Blue green algae *Spirulina*. In:Proc. IV IFS. *Fermentation Technology Today*, pp.543.
- Okamura, H., Aoyama, I.** 1994. Interactive toxic effect and distribution of heavy metals in phytoplankton. *Toxicology. & Water Quality*, 9: 7–15.
- Olguín, E.J.** 1986. Appropriate biotechnology systems in the arid environment. In H.W. Doelle, & C.G. Helén, eds. *Applied Microbiology*. Dordrecht, D. Reidel Publ. Com., Paris, UNESCO, *Trends in Applied Sciences Research*, 2: 111–134.
- Pandey, J.P., Pathak, N., Tiwari, A.** 2010. Standardization of pH and Light Intensity for the Biomass Production of *Spirulina platensis*. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 1 (2): 93 – 102.
- Phang, S.M., Miah, M.S., Chu, W.L., Hashim, M.** 2000. *Spirulina* culture in digested sago starch factory waste water. *Journal of Applied Phycology*, 12: 395–400.
- Rafiqul Islam, M., Hassan, A, Sulebele, G., Orosco C., Roustaian, P.** 2003. Influence of Temperature on Growth and Biochemical Composition of *Spirulina platensis* and *Spirulina fusiformis*. *Iranian International Journal of Sciences*, 4(2): 97-106.
- Raooof, B., Kaushika, B.D., Prasanna, R.** 2006. Formulation of a low-cost medium for mass production of *Spirulina*. Division of Microbiology, Indian Agricultural Research Institute, *Indian Agricultural Research Institute*, 110-112.
- Reilly, P., O'Doherty, J.V., Pierce, K.M.,** 2008. The effects of seaweed extract inclusion on gut morphology, selected intestinal microbiota, nutrient digestibility, volatile

fatty acid concentrations and the immune status of the weaned pig. *Animal*, 2: 1465-1473.

- Richmond, A.**, 1986. Microalgae of Economic Potential. In: A. Richmond (Ed). *Handbook of Microalgal Mass Cultures of Microalgae*. CRC Press, Inc., 201-283, Boca Raton, Florida.
- Ruan, J.S., Guo, B.J., Shu, L.H.** 1990. Effect of *Spirulina* polysaccharides on changes in white blood corpuscles induced by radiation in mice. *Journal Radiation Research. & Technology*, 8: 210–213.
- Ruan, J.S., Long, C.S., Guo, B.J.** 1988. *Spirulina* prevented damage induced by radiation. *Journal of Genetics*, 10: 27–30.
- Sasson, A.** 1997. *Micro Biotechnologies: Recent Developments and Prospects for Developing Countries*. BIOTEC Publication 1/2542. pp. 11–31. Place de Fontenoy, Paris. France. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO).
- Seyhaneyildiz Can, Ş., Cirik, S., Koru, E., Turan, G., Tekoğul, H., Subakan, T.** 2016. Effects of salinity, light and nitrogen concentration on growth and lipid accumulation of the green algae *Dunaliella bardawil*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25:1437-1447.
- Sharma, R.M., Azeez, P.A.** 1988. Accumulation of copper and cobalt by blue-green algae at different temperature. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 32: 87–95.
- Slotten, O.G., Glodman, C.R. Franke, A.** 1989. Commercially grown *Spirulina* found to contain Low levels of mercury and lead. *Nutrition Reports International*, 40(6):1165-1172.
- Smith, A.G., O’Doherty, J.V., Reilly, P.** 2011. The effects of laminarin derived from *Laminaria digitata* on measurements of gut health: selected bacterial populations, intestinal fermentation, mucin gene expression and cytokine gene expression in the pigs. *British Journal Nutrition*, 105: 669-677.
- Somasekaran, T.** 1987. Technology of Production of B.G.A. *Spirulina platensis* and its application. *Ph.D., CFTRI, Mysore*, pp: 150-170.
- Spoehr, H.A., Milner, H.A.** 1949. The Chemical Composition of *Chlorella*: Effect of Environmental Conditions. *Plant Physiology*, 24: 120.
- Stanier, R.Y., Van Niel, Y.** 1962. The concept of a bacterium. *Archives of Microbiology*, 42:17–35.
- Tanticharoen, M., Reungjitchachawali, M., Boonag, B., Vonktaveesuk, P., Vonshak, A., Cohen, Z.** 1994. Optimization of gamma-linolenic acid (GLA) production in *Spirulina platensis*. *Journal of Applied Phycology*, 6: 295–300.

- Tomaselli, L., Palandri, M.R., Tredici, M.R.** 1996. On the correct use of the *Spirulina* designation. *Algological Studies*, 83: 539-548.
- Tomaselli, L.** 1997. Morphology, ultrastructure and taxonomy of *Arthrospira (Spirulina) maxima* and *Arthrospira (Spirulina) platensis*. In Vonshak, A., ed. *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell- biology and biotechnology*. pp. 1 – 16. London, Taylor and Francis.
- Tomaselli, L., Giovannetti, L., Sacchi, A., Bocci, F.** 1988. Effects of temperature on growth and biochemical composition in *Spirulina platensis* strain M2. In: *Algal Biotechnology*, T. Stadler, J. Mellion, M.C. Verdus, Y. Karamanos, H. Morvan, D. Christiaen (Eds.), *Elsevier Applied Science*, London. pp 303-314.
- Torzillo, G., Giovannetti, L., Bocci, F., Materassi, R.** 1984. Effect of oxygen concentration on the protein content of *Spirulina* biomass. *Biotechnology and Bioengineering*, 26(9):1134-5.
- URL-1**, 2019. <http://www.spirulina.com.au/index.php/history-of-spirulina> Historical Use of *Spirulina*. 11 Ocak 2019.
- URL-2**, 2019. <http://www.algaeindustrymagazine.com/special-report-spirulina-part-2-first-human-consumption-and-cultivation/> Algae in Historical Legends. 06.03.2019.
- URL-3**, 2019. <http://www.spirulinaacademy.com/grow-your-own-spirulina/> Grow *Spirulina* at home. 25.03.2019.
- Usharani, G., Saranraj, P., Kanchana, D.** 2012. *Spirulina* Cultivation: A Review *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 3(6): 1327-1341
- Venkataraman, L.V., E.W. Becker.** 1986. Prospects of cultivated fresh and brackish water algae. *CFTRI, Mysore*, pp. 72-74.
- Venkataraman, L.V., Somasekaran, T., Becker, E.W.** 1994. Replacement value of blue-green alga (*Spirulina platensis*) for fish meal and a vitamin-mineral premix for broiler chicks. *British Poultry Science*, 3: 373–381.
- Vieira Costa, J.A, Colla L.M., Filho, P.D.** 2003. *Spirulina platensis* Growth in Open Raceway Ponds Using Fresh Water Supplemented with Carbon, Nitrogen and Metal Ions. *Zeitschrift für Naturforschung*, 58c: 76-80.
- Vonshak, A.** 1990. Recent advances in microalgal biotechnology. *Biotechnology Advances*, 8: 709–727.
- Vonshak, A., Chanawongse, L., Bunnag, B., Tanticharoen, M.** 1996. Light acclimation and photoinhibition in three *Spirulina platensis* (Cyanobacteria) isolates. *Journal of Applied Phycology*, 8: 35–40.

- Vonshak, A., Richmond, A.** 1988. Mass production of the blue-green alga *Spirulina*: an overview. *Biomass*, 15: 233–247.
- Watanabe, Y., D.O.Hall.** 1996. Photosynthetic production of filamentous cyanobacterium *Spirulina platensis* in a cone shaped helical tubular photo bioreactor. *Applied Microbial Biotechnology*, 44: 693 - 698.
- Zarrouk, C.,** 1966. *Ph.D. thesis*. Paris, France: University of Paris.
- Zhang, X.W., Zhang, Y. M., Chen, F.** 1999. Application of mathematical models to the determination optimal glucose concentration and light intensity for mixotrophic culture of *Spirulina platensis*. *Process Biochemistry*, 34: 477–481.
- Zhang, X., Qin, S., Ma, J., Xu, P.** 2005. The genetics of marine algae. China Agriculture Press Beijing 464, *Biotechnology Letters*, 29: 459-464.



ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Gaziantep'te doğdu. İlk öğrenimini Gaziantep Namık Kemal İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimini Gaziantep İsmet Paşa Lisesi'nde tamamladı. 2000 yılında girdiği Afyon Kocatepe Üniversitesi Bolvadin Meslek Yüksekokulu, İşletmecilik Programından 2002 yılında iyi derecede mezun oldu. 2005 yılında girdiği Anadolu Üniversitesi İşletme Fakültesi Lisans Bölümü'nden 2007 yılında mezun oldu. 2014 yılında girdiği Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Eğitim Fakültesi Okul Öncesi Öğretmenliği'nden 2018 yılında mezun oldu. 2018-2019 eğitim öğretim yılında Aktoprak Zeugma Anaokulunda okul öncesi öğretmeni olarak çalıştı. 2011 yılında Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.