



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

***SPIRULINA PLATENSIS* VE *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM*'UN YETİŞTİRİCİLİĞİNDE
FARKLI TUZLULUK ORANLARININ BİYOAKTİF BİLEŞİKLER, AROMA MADDELERİ, KALİTE
PARAMETRELERİ VE *İN VİTRO* BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Türkan UZLAŞIR
DOKTORA TEZİ**



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

***SPIRULINA PLATENSIS* VE *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM*'UN YETİŞTİRİCİLİĞİNDE
FARKLI TUZLULUK ORANLARININ BİYOAKTİF BİLEŞİKLER, AROMA MADDELERİ, KALİTE
PARAMETRELERİ VE *İN VİTRO* BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Türkan UZLAŞIR
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
PROF. DR. HAŞİM KELEBEK**

**II. DANIŞMAN
PROF. DR. OYA IŞIK**

ADANA, 2024

JÜRİ ONAY SAYFASI

***SPİRULİNA PLATENSİS* VE *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM*'UN
YETİŞTİRİCİLİĞİNDE FARKLI TUZLULUK ORANLARININ BİYOAKTİF
BİLEŞİKLER, AROMA MADDELERİ, KALİTE PARAMETRELERİ VE *İN VİTRO*
BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında 185003011 numaralı **Türkan UZLAŞIR** tarafından **ilgili yönetmeliklerin belirlediği şartlar doğrultusunda** tamamlanan **Doktora Tezi** aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri uyarınca onaylanmıştır.

Doç. Dr. Mustafa KILIÇ

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Zafer ERBAY

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Haşim KELEBEK

Danışman

Prof. Dr. Oya IŞIK

İkinci Danışman

Tez Jürisi

Prof. Dr. Haşim KELEBEK

Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi

Prof. Dr. Serkan SELLİ

Çukurova Üniversitesi

Prof. Dr. Leyla USLU

Çukurova Üniversitesi

Doç. Dr. Kemal ŞEN

Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Ali Emrah ÇETİN

Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji
Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi

.../.../...

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak, bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın hazırladığım bu tez çalışmada;

Bu tezin özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin akademik kurallara ve etik davranışa uygun olarak elde edilerek sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, tez kapsamında bu kuralların ve davranışların gerektirdiği şekilde bu çalışmaya özgün olmayan tüm veri ve bilgiler için bilimsel etik ve gelenek çerçevesinde kaynak gösterdiğimi; bu kaynakları da kaynakçada belirttiğimi beyan ederim. Çalışmam ile ilgili yaptığım beyana aykırı bir durum saptanması halinde tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.../.../20..

[İmza]

Türkan UZLAŞIR

ÖZET

***SPİRULİNA PLATENSİS* VE *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM*'UN YETİŞTİRİCİLİĞİNDE FARKLI TUZLULUK ORANLARININ BİYOAKTİF BİLEŞİKLER, AROMA MADDELERİ, KALİTE PARAMETRELERİ VE *İN VİTRO* BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Türkan UZLAŞIR

Doktora, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Haşim KELEBEK

II. Danışman: Prof. Dr. Oya IŞIK

Haziran 2024, 146 sayfa

Bu çalışmada, farklı tuzluluk oranlarının *Spirulina platensis* ve *Phaeodactylum tricornutum*'un büyümesi, antioksidan aktivitesi, fenolik profili, aroma bileşikleri, biyoaktif özellikleri ve mikrobiyal yükü üzerindeki etkisi ilk kez araştırılmıştır. Çalışma kapsamında *S. platensis* kültürü için ‰20 (Kontrol), 25, 30 ve 35 ve *P. tricornutum* kültürü için ‰15, 25, 30 (Kontrol) ve 35 tuz oranları araştırılmıştır. Antioksidan kapasite DPPH ve ABTS olmak üzere iki farklı yöntemle, aroma bileşikleri HS-SPME-GC/MS kullanılarak, organik asit ve şeker bileşimi HPLC-PDA-RID yöntemiyle değerlendirilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite ve fenolik bileşik içerikleri kontrol olarak adlandırılan tuz oranlarında saptanmıştır. *S. platensis* (‰20), *P. tricornutum*'a (‰30) kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite sergilemiş ve bu aktivite artan tuz stresiyle azalmıştır. HPLC-DAD-ESI-MS/MS kullanarak, *S. platensis* ve *P. tricornutum* kültür örneklerinde sırasıyla 24 ve 20 fenolik bileşik tanımlanmış ve miktarları belirlenmiştir. *S. platensis* örneklerinde baskın fenolik bileşik kuersetin türevi iken, *P. tricornutum* örneklerinde dimetoksiflavon baskın olarak saptanmıştır. Çalışmada ayrıca amino asit profilleri kıyaslanmış ve glutamik asit (6,24-12,96 mg/100 g KA) ve alanin (3,67-13,65 mg/100 g KA) baskın amino asitler olarak belirlenmiştir. *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinde sırasıyla glikoz (192-2322 mg/100 g KA) ve sakkaroz (229-1099 mg/100 g KA) baskın şekerler olarak belirlenmiştir. *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinde ise baskın uçucu bileşikler olarak sırasıyla heptadekan ve asetik asit saptanmıştır. Artan tuz konsantrasyonu ile amino asit, şeker ve organik asit miktarlarında önemli bir azalma tespit edilmiştir. Mikrobiyal sayım sonuçları incelendiğinde, *S. platensis* örneklerinde toplam

aerobik mezofilik bakteri sayımı 300 ile $1,9 \times 10^4$ kob/g ve maya/küf sayımı >10 ile 10^4 kob/g arasında değişirken, *P. tricornutum* örneklerinde ise toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı 300 ile $2,78 \times 10^4$ kob/g ve maya/küf sayımı ise 10 ila $1,35 \times 10^4$ kob/g arasında değişmiştir. Yapılan genel değerlendirmede, *S. platensis* ve *P. tricornutum* üretimi sırasında besin ortamına farklı oranlarda tuz eklenmesinin, büyüme sürecini, fenolik bileşikleri, antioksidan potansiyeli, aroma bileşiklerini, aminoasit kompozisyonunu, şeker içeriğini ve mikrobiyal yük değerlendirmesini ve *in vitro* biyoerişilebilirliğini etkilediği ve genel olarak kontrol olarak kodlanan örneklerin altındaki veya üzerindeki tuz oranlarında kalite parametrelerinin olumsuz yönde etkilendiği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Spirulina platensis*, *Phaeodactylum tricornutum*, Antioksidan kapasite, Fenolikler, *In vitro* sindirim, tuzluluk oranı

ABSTRACT

THE EFFECT OF DIFFERENT SALINITY RATIOS ON BIOACTIVE COMPOUNDS, VOLATILE, QUALITY PARAMETERS, AND IN VITRO BIOACCESSIBILITY IN THE CULTIVATION OF *SPIRULINA PLATENSIS* AND *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM*

Türkan UZLAŞIR

PhD, Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Haşim KELEBEK

Co-Supervisor: Prof. Dr. Oya IŞIK

June 2024, 146 pages

In this study, the effect of different salinity ratios on growth, important quality parameters, antioxidant activity, phenolic profile, aroma compounds, bioactive properties, and microbial load of *Spirulina platensis* and *Phaeodactylum tricornutum* was investigated for the first time. Salt concentrations of 20, 25, 30, and 35 ‰ for *S. platensis* culture and 15, 25, 30, and 35 ‰ for *P. tricornutum* culture were investigated. Antioxidant capacity was evaluated by two different methods, DPPH and ABTS, aroma compounds by HS-SPME-GC/MS, and organic acid and sugar composition by HPLC-PDA-RID. The highest antioxidant activity and phenolic compound contents were found in salt concentrations called control. *S. platensis* (‰20) showed significantly higher antioxidant activity than *P. tricornutum* (‰30) and this activity reduced with increasing salt stress. In *S. platensis* and *P. tricornutum* culture samples, 24 and 20 phenolic compounds were identified and quantified by HPLC-DAD-ESI-MS/MS, respectively. While the dominant phenolic compound in *S. platensis* samples was quercetin derivative, dimethoxyflavone was abundant in *P. tricornutum* samples. Amino acid profiles were also compared and glutamic acid (6.24-12.96 mg/100 g DW) and alanine (3.67-13.65 mg/100 g DW) were the dominant amino acids. The dominant sugars were glucose (192-2322 mg/100 g DW) and sucrose (229-1099 mg/100 g DW) in *S. platensis* and *P. tricornutum* samples, respectively. In *S. platensis* and *P. tricornutum* samples, heptadecane and acetic acid were the dominant volatile compounds, respectively. A significant decrease in the amounts of amino acids, sugars, and organic acids was detected with increasing salt concentration. When

microbial count results were analyzed, total aerobic mesophilic bacteria count ranged from 300 to 1.9×10^4 cfu/g and yeast/mold counts ranged from >10 to 10^4 cfu/g in *S. platensis* samples, while total aerobic mesophilic bacteria count ranged from 300 to 2.78×10^4 cfu/g and yeast/mold counts ranged from 10 to 1.35×10^4 cfu/g in *P. tricornutum* samples. This study shows that the addition of different amounts of salt to the nutrient medium during the production of *S. platensis* and *P. tricornutum* can affect their growth, phenolic compounds, antioxidant capacity, aroma compounds, amino acid composition, sugar content, and microbial load assessment and in vitro bioaccessibility.

Keywords: *Spirulina platensis*, *Phaeodactylum tricornutum*, Antioxidant capacity, Phenolics, In vitro digestion, salinity ratio.

İthaf

*Bu tez Atatürk'ün “**Kahraman Türk kadını, sen yerde sürünmeye değil, omuzlar üzerinde göklere yükselmeye layıksın**” sözü üzerine insanlığı iyiye, doğruya, güzele ve bilime yönlendiren tüm kadınlara ithaf edilmiştir.*



TEŞEKKÜR

Çalışmalarında ve doktora eğitimim süresince yoluma ışık tutan, yol gösteren, destek ve emeklerini esirgemeyen, beni yüreklendiren, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Haşim KELEBEK'e sonsuz teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Bu tez "120O858" proje numaralı 1002-Hızlı Destek projesi kapsamında Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir. TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım. Doktora eğitimime 100/2000 YÖK Doktora Bursu ile başladığım ve doktora süresince verdiği desteklerden dolayı Yükseköğretim Kurulu (YÖK)'na teşekkür ederim. Çalışmalar sırasında emeklerini esirgemeyen Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nden ikinci danışmanım Prof. Dr. Oya IŞIK'a, emeklerini ve bilgisini esirgemeyen Prof. Dr. Leyla USLU' ya, Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden Prof. Dr. Serkan SELLİ'ye teşekkür ederim.

Tez jürimde bulunan Prof. Dr. Serkan SELLİ, Prof. Dr. Leyla USLU ve Dr. Öğr. Üyesi Ali Emrah ÇETİN hocalarıma, bilgi ve tecrübeleri ile bana sürekli destek olan Doç. Dr. Pınar KADİROĞLU KELEBEK'e teşekkür ederim. Tez jürimde bulunan ve danışman hocam ile tanışmama vesile olan, yüksek lisans ve doktora eğitimim süresince her koşulda beni destekleyen ve yoluma ışık tutan Doç. Dr. Kemal ŞEN hocama teşekkürü borç bilirim.

Tüm hayatım boyunca iyi ki var dediğim ve desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen, başarılarıma sevinen, beni yalnız bırakmayan babam Muzaffer UZLAŞIR' a, annem Meral UZLAŞIR' a, ikizim Necip UZLAŞIR ve eşi Ayşe UZLAŞIR' a, abim Melih UZLAŞIR ve eşi Merve UZLAŞIR' a, aynı zamanda kardeş olmak için kan bağı olmadığını bana öğreten canım dostum Nimet ONAT' a teşekkür ederim. Doktora sürecimin son zamanlarında hayatıma dahil olan ve hala olmanın mükemmel bir duygu olduğunu sayesinde öğrendiğim canım yeğenim Çınar UZLAŞIR' a teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen, iyi ki var dediğim değerli arkadaşlarım, Özlem UĞURLU'ya, Hatice Kübra ŞAŞMAZ'a, Özge AKSAY'a, ve Cemal AKA'ya teşekkürü bir borç bilirim. Tez çalışmam süresince mikrobiyolojik analizlerde bana yardımcı olan değerli arkadaşım Ceren İLGİZ'a ve çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen değerli arkadaşlarım Onur SEVİNDİK ve Gamze GÜÇLÜ' ye teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
İthaf.....	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
TABLO LİSTESİ.....	xiv
KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. <i>Spirulina platensis</i> (<i>Arthrospira platensis</i>).....	5
1.2. <i>Phaeodactylum tricornutum</i> (<i>P. tricornutum</i>).....	10
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	18
3. MATERYAL VE METOT.....	22
3.1. <i>Spirulina platensis</i> ve <i>Phaeodactylum tricornutum</i> kültürleri.....	22
3.1.1. <i>Spirulina platensis</i> denemelerinin kurulması.....	23
3.1.2. <i>Phaeodactylum tricornutum</i> denemelerinin kurulması.....	26
3.2. Kültürlerin Yetiştirilmesi Süresince Yapılan Analizler.....	29
3.2.1. Hücre yoğunluğu ölçümü (optik yoğunluk).....	29
3.2.2. Kuru madde analizi.....	29
3.2.3. Klorofil-a ve toplam karotenoid analizi.....	30
3.2.4. Fikosiyanin analizi.....	31
3.2.5. Fukoksantin analizi.....	32
3.3. <i>Spirulina platensis</i> ve <i>Phaeodactylum tricornutum</i> 'un hasat edilmesi.....	32
3.4. Hasat Sonrası Yapılan Analizler.....	33
3.4.1. Kuru madde ve protein analizi.....	33
3.4.2. Renk analizi.....	34
3.4.3. Antioksidan kapasitenin belirlenmesi.....	35

3.4.4. Toplam fenolik madde analizi.....	36
3.4.5. Fenolik bileşiklerin LC-ESI-MS/MS ile analizi.....	37
3.4.6. Organik asitlerin ve şekerlerin HPLC-PDA-RID ile analizi.....	39
3.4.7. Amino asitlerin HPLC-PDA ile analizi.....	40
3.4.8. Uçucu bileşiklerin analizleri.....	40
3.4.8.1. Uçucu bileşiklerin ekstraksiyonu.....	40
3.4.8.2. Uçucu bileşiklerin GC-FID ve GC-MS ile analizleri.....	40
3.5. Mikrobiyolojik analizler.....	41
3.6. İn Vitro Sindirim Sistemi Metodu ile Biyoaktif Bileşiklerinin Biyoerişilebilirliklerinin Tespiti.....	42
3.7. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler.....	42
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	43
4.1. Deneme Süresince Yapılan Analizlerin Sonuçları.....	43
4.1.1. Hücre Yoğunluğu ölçümü (optik yoğunluk) sonuçları.....	43
4.1.2. Kuru madde (kuru biyomas) analizi sonuçları.....	44
4.1.3. Klorofil-a ve toplam karotenoid analizi sonuçları.....	47
4.1.4. Fikosiyanin analiz sonuçları.....	53
4.1.5. Fukoksantin sonuçları.....	54
4.2. Deneme Sonunda Elde Edilen ve Dondurularak Kurutulan Ürünlerde Yapılan Analizler.....	56
4.2.1. pH ölçümü sonuçları.....	56
4.2.2. Toplam ham protein (%) analizi sonuçları.....	56
4.2.3. Kuru madde miktarı (%) sonuçları.....	57
4.2.4. Renk ölçümü sonuçları.....	58
4.2.5. Antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde miktarı (TFM) analiz sonuçları.....	59
4.2.6. LC-ESI-MS/MS ile belirlenen fenolik bileşiklerin sonuçları.....	64
4.2.7. HPLC-PDA-RID ile belirlenen organik asitlerin ve şeker sonuçları.....	72
4.2.7.1. Organik asitler.....	72
4.2.7.2. Şeker profili.....	73
4.2.8. GC-FID ve GC/MS ile belirlenen uçucu bileşenlerin sonuçları.....	76
4.2.9. HPLC-PDA ile amino asitlerin sonuçları.....	86
4.2.10. Biyoaktif bileşiklerin in vitro sindirim ile biyoerişilebilirlik sonuçları.....	91

4.2.11. Mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	0
5. SONUÇLAR.....	3
KAYNAKÇA.....	6
ÖZGEÇMİŞ	



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1.	<i>S. platensis</i> 'in mikroskop görüntüsü ve mikroalglerin genel hücre yapısı	5
Şekil 1.2.	<i>S. platensis</i> 'in biyokimyasal kompozisyonu	6
Şekil 1.3.	<i>S. platensis</i> 'in pigment kompozisyonu	7
Şekil 1.4.	Fikosiyanin ve Fikosiyanobilin kimyasal yapısı	8
Şekil 1.5.	<i>S. platensis</i> 'te bulunan fenolik bileşikler	9
Şekil 1.6.	<i>P. tricornutum</i> 'un mikroskop görüntüsü ve diatomların genel hücre yapısı	10
Şekil 1.7.	<i>P. tricornutum</i> 'un biyokimyasal kompozisyonu	11
Şekil 1.8.	<i>P. tricornutum</i> 'un farklı morfolojik formları.....	12
Şekil 1.9.	<i>P. tricornutum</i> 'un pigment kompozisyonu	13
Şekil 1.10.	Fukoksantin kimyasal yapısı	14
Şekil 1.11.	<i>P. tricornutum</i> 'da bulunan fenolik bileşikler	15
Şekil 3.1.	<i>P. tricornutum</i> ve <i>S. platensis</i> aş kültürleri	23
Şekil 3.2.	Spirulina ortamlarının tuzluluğunun ayarlanması, stok kültürlerin eklenmesi ve denemelerin kurulması	25
Şekil 3.3.	Walne ortamının hazırlanması ve <i>P. tricornutum</i> aş kültürlerinin eklenmesi	27
Şekil 3.4.	Deneme planı ve yapılan analizler	28
Şekil 3.5.	Optik yoğunluk için alınan örnekler ve spektrofotometrede ölçümü.....	29
Şekil 3.6.	Kuru madde analizi aşamaları	30
Şekil 3.7.	Klorofil- <i>a</i> ve toplam karoten analizi	30
Şekil 3.8.	Fikosiyanin analizi	31
Şekil 3.9.	<i>S. platensis</i> hasat işlemi.....	33
Şekil 3.10.	<i>P. tricornutum</i> hasat işlemi	33
Şekil 3.11.	Konica Minolta CM-5 renk ölçüm cihazı	34
Şekil 3.12.	Antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde analizleri için <i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> örneklerinin ekstraksiyonu	35
Şekil 3.13.	Fenolik bileşiklerin tanımlanmasında kullanılan LC-DAD-ESI-MS/MS.....	37
Şekil 3.14.	Toplam aerobik mezofilik bakteri ve maya- küf sayılarının belirlenmesi	42
Şekil 4.1.	Deney süresince farklı tuz oranlarında yetiştirilen <i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> kültürlerinin optik yoğunluk (hücre yoğunluğu) değişimleri.....	44
Şekil 4.2.	Deney süresince farklı tuz oranlarında (%15-35) yetiştirilen <i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> kültürlerinin kuru madde miktarındaki (g/L) değişimler	46

Şekil 4.3.	Deney süresince farklı tuz oranlarında (15-35%) yetiştirilen <i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> kültürlerinin klorofil- <i>a</i> miktarındaki (µg/L) değişimler.....	48
Şekil 4.4.	Deney süresince farklı tuz oranlarında (15-35%) yetiştirilen <i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> kültürlerinin toplam karotenoid içeriğindeki (µg/L) değişimler.	50
Şekil 4.5.	<i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> örneklerinin pigment, renk özellikleri, optik yoğunluk, organik asit ve şeker içeriklerinin tuz oranına bağlı olarak korelasyon matrisi	52
Şekil 4.6.	Fikosiyanin analizi için elde edilen ekstraktlar	53
Şekil 4.7.	<i>P. tricornutum</i> 'dan elde edilen fukoksantin ekstraktları.....	54
Şekil 4.8.	<i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> toz örnekler	59
Şekil 4.9.	<i>S. platensis</i> örneklerinin antioksidan aktivitesi ve fenolik profilinin korelasyon matrisi	61
Şekil 4.10.	<i>P. tricornutum</i> örneklerinin antioksidan aktivitesi ve fenolik profilinin korelasyon matrisi	62
Şekil 4.11.	<i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> örneklerinden elde edilen fenolik bileşiklerin LC-DAD-ESI-MS/MS kromatogramları.	71
Şekil 4.12.	<i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> kültürlerinin şeker kromatogramlar	74
Şekil 4.13.	<i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> örneklerinin uçucu bileşikleri için kromatogramlar	83
Şekil 4.14.	Tuz oranlarına bağlı olarak <i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> örneklerinin uçucu bileşiklerinin korelasyon matrisi	85
Şekil 4.15.	Tuz oranına bağlı olarak <i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> örneklerinin protein ve amino asitlerinin korelasyon matrisi	88
Şekil 4.16.	<i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> örneklerinin aminoasit kromatogramı	90
Şekil 4.17.	Biyoaktif bileşiklerin genel sindirim şeması.....	91

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1.	<i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> 'a ait sistematik sınıflandırma	22
Tablo 3.2.	Spirulina ortamı	24
Tablo 3.3.	<i>P. tricornutum</i> için kullanılacak Walne ortamı	26
Tablo 4.1.	Farklı tuz oranlarında (15-35‰) yetiştirilen <i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> 'un optik yoğunluk, kuru madde (kuru biyomas), klorofil- <i>a</i> , toplam karotenoid, fukoksantin, fikosiyanin, protein, kuru madde ve renk karşılaştırması	49
Tablo 4.2.	Dondurularak kurutulmuş <i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> toz örneklerindeki yetiştirme ortamındaki tuz oranına bağlı olarak antioksidan kapasite (DPPH, ABTS ve CUPRAC) ve toplam fenolik madde miktarının (TFM) değişimi.....	59
Tablo 4.3.	Farklı tuz oranlarında yetiştirilen <i>S. platensis</i> örneklerindeki fenolik bileşiklerin ve karotenoidlerin miktarları (mg/100 g KA).....	66
Tablo 4.4.	Farklı tuz oranlarında yetiştirilen <i>P. tricornutum</i> örneklerindeki fenolik bileşiklerin ve karotenoidlerin miktarları (mg/100 g KA).....	67
Tablo 4.5.	Farklı tuz oranlarında (15-35‰) yetiştirilen ve dondurularak kurutulmuş <i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> örneklerinin organik asit ve şeker kompozisyonları.....	75
Tablo 4.6.	Farklı tuz oranlarında (20-35‰) yetiştirilen <i>S. platensis</i> 'in uçucu bileşikleri (µg/kg)	77
Tablo 4.7.	Farklı tuz oranlarında (15-35‰) yetiştirilen <i>P. tricornutum</i> 'un uçucu bileşikleri (µg/kg)	79
Tablo 4.8.	Farklı tuz oranlarında yetiştirilen <i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> örneklerinin aminoasit bileşikleri ve miktarları (mg/100 g KA).....	86
Tablo 4.9.	Dondurularak kurutulmuş <i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> toz örneklerindeki antioksidan aktivite (DPPH, ABTS ve CUPRAC) ve toplam fenolik bileşikler (TFM) üzerinde <i>in vitro</i> sindirim modelinin yetiştirme ortamı tuz oranlarına bağlı olarak etkisi.....	94
Tablo 4.10.	Dondurularak kurutulmuş <i>S. platensis</i> ve <i>P. tricornutum</i> toz örneklerinin yetiştirme ortamında tuz oranına bağlı olarak toplam aerobik mezofilik bakteri ve maya/küf sayıları.....	1

KISALTMALAR

ATP	: Adenozin trifosfat
EPA	: Eikosapentaenoik asit
GLA	: γ -linoleik asit
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
EFA	: Esansiyel yağ asitleri
Ca-SP	: Kalsiyum spirulan
Da	: Dalton
UV	: Ultraviole
Fe	: Demir
Cu	: Bakır
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ABTS	: 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid
CUPRAC	: Cupric Reducing Antioxidant Capacity
LC-DAD- MS/MS	: Diyot array dedektörlü sıvı kromatografisi-kütle spektroskopisi
HPLC-PDA	: Fotodiyot array dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HPLC-RID	: Refraktif indeks dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi
GC-FID	: Alev iyonizasyon dedektörlü gaz kromatografisi
DW	: Dry weight
KA	: Kuru ağırlık
GC-MS	: Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
PDA	: Fotodiyot array dedektörü
RID	: Refraktif indeks dedektörü
NaNO ₃	: Sodyum nitrat
Rt	: Alıkonma zamanı
TFM	: Toplam fenolik madde

1. GİRİŞ

İnsanlık tarihinin başlangıcından bu yana temel bir sorun olan yetersiz beslenme ve açlık, günümüzde de önemini korumaktadır. Buna karşılık, gelişmiş ülkelerde toplumun önemli bir bölümü kalp ve damar hastalıkları, diyabet ve obezite gibi sağlık sorunlarına yol açan yüksek kalorili yiyeceklerin tüketimine bağlı hastalıklara maruz kalmaktadır. Bunun yanında nüfus artışı ile besin ihtiyacının artması ve yetersiz beslenmeye bağlı olarak ortaya çıkabilecek hastalık riskleri insanlığı mevcut kaynakları geliştirmeye ve alışılmışın dışında yeni alternatif besin kaynaklarından yararlanmaya yöneltmiştir. Alternatif gıda kaynağı olarak değerlendirilebilen algler, ipliksi ve tek hücreli mikroskobik formlardan birkaç metre uzunluğundaki bitkilere kadar çeşitli morfolojilere sahip olup genellikle sucul ve yarı sucul ortamlarda (nehirler, okyanuslar, çaylar, tatlı su gölleri, kutup gölleri, su birikintileri, dereler vb.) geniş bir dağılım göstermekte ve selüloz çeperine sahip, ototrof, fotosentetik, basit yapılı ve çoğunlukla ökaryotik organizmalardır (Pereira ve Magalhaes, 2014).

Algler, prokaryotik ve ökaryotik olmak üzere yapısal olarak iki büyük gruba ayrılırlar. (*Cyanophyta*) olarak bilinen Siyanobakteriler (mavi-yeşil algler) mikroalg sınıfları içerisinde prokaryotik organizmaları içeren tek gruptur. Kırmızı algler (*Rhodophyta*), kahverengi algler (*Phaeophyta*), diatomlar (*Chrysophyta*), yeşil algler (*Chlorophyta*) ve kamçılı algler (*Flagellata*) ise pigmentasyonlarına veya kamçı taşımalarına göre sınıflandırılan ökaryotik mikroalglerdir (El Gamal, 2010). Mikroalgler, mikroskobik canlılardır ve binlerce türüne tatlı sularda ve denizlerde rastlanmaktadır. Ayrıca ticari değeri olan farklı kimyasal ve biyolojik bileşikler üretebilme yeteneğine sahip önemli mikrobiyal kaynaklardır.

Cyanophyta filumu (siyanobakteriler), yeryüzündeki ilk fotosentetik organizmalar olarak kabul edilmekte ve yaklaşık 3,5 milyar yıldır varlıklarını sürdürmektedirler. Diğer alg grupları arasında prokaryotik yapıya sahip tek grup olan mikroalgler, mitokondri, endoplazmik retikulum, çekirdek, golgi aygıtı, plastid çeperi ve kofullarının bulunmaması nedeniyle bakteriyologlar tarafından *Cyanobacteria* olarak sınıflandırılmaktadır. Bununla birlikte, Fotosistem I ve Fotosistem II'ye sahip oldukları için fikologlar tarafından *Cyanophyta* altında incelenmektedirler (Cirik ve Cirik, 2011; Meinesz, 2010). Hücre membranına bağlı hücre organellerinin bulunmaması nedeniyle, mavi-yeşil alglerin bakterilere daha yakın olduğu düşünülmektedir. Mavi-yeşil algler, hücre zarı yapısında peptidoglikan içermesi nedeniyle gram-negatif bakterilere benzerlik göstermektedir (Dalay, İmamoğlu ve Öncel, 2008). Hücre

yapısında en dışta mukoz tabaka ve daha sonra pektinden meydana gelen hücre çeperi bulunmaktadır (Bourgou, Kchouk, Bellila ve Marzouk, 2010). Klorofil ve karotenoid pigmentler “lamella” adı verilen hücre yüzeyi membranında, fikosiyanin ve fikoeritrin gibi pigmentler ise tilakoit membranın yüzeyinde bulunan fikobilizomlarda bulunmaktadır (Eriksen, 2008).

Fotoototrofik organizmalar tarafından (fotosentetik bakteriler ve yüksek bitkiler gibi) ışık enerjisinin kimyasal enerjiye dönüştüğü metabolik işlem fotosentez olarak isimlendirilmektedir ve iki aşamadan meydana gelmektedir. Birinci aşamada güneş enerjisinden ATP üretilirken, ikinci aşamasında ise üretilen ATP’ler besin sentezinde kullanılmaktadır (Johnson, 2016). Fotosistem, tilakoid zarın içinde bulunan; ışığı emen pigmentler, proteinler, ilk elektron alıcısı ve diğerk moleküllerin birimler halinde düzenlendiğı yapıdır. Fotosistemde, ışığın emilmesi ve elektronların hareketleriyle enerji transferi yapılmaktadır. Fotosistem-I ve Fotosistem-II olmak üzere fotosentezin ışığa bağımlı tepkimelerinde kullanılan iki fotosistem çeşidi bulunmaktadır. Bu iki sistem arasındaki en temel fark; fotosistem-I’in 700 nm dalga boylarındaki ışığı, fotosistem-II’nin ise 680 nm dalga boyundaki ışığı en iyi soğurmasıdır (Johnson, 2016). Fotosisteme ışık düştüğünde ışığın enerjisi tepkime merkezine ulaşıncaya kadar anten kompleksinde bulunan pigmentlerde gezinir. Tepkime merkezine ulaştığında ise klorofilden bir elektron kopmakta ve bu elektron ilk elektron alıcısı adında özel bir moleküle tutunmaktadır. Elektron taşınım reaksiyonları, hücre içinde sitoplazma merkezi ile kenarı arasında paralel dizilmiş ve fikobilizomlarla birleşmiş yapılar olan tilakoid zarlarda meydana gelmektedir. Mavi-yeşil alglerde bu zarlar, yüksek bitkilerdekinin aksine organize bölgeler halinde değıl sitoplazma içinde, yüksek bitkilerde ise kloroplastta gerçekleşmektedir. Tilakoidlerde yalnızca klorofil-*a* bulunurken, klorofil-*b* ve klorofil-*c* bulunmaz (Buono, Langellotti, Martello, Rinna, ve Fogliano, 2014). Bütün fotosentetik organizmalar ışık enerjisini kullanabilmek için organik pigmentler içermektedirler. Klorofiller, karotenoidler ve fikobilinler olmak üzere üç ana pigment bu dönüşümde görev almaktadır. Klorofiller (yeşil pigmentler) ve karotenoidler (sarı ve turuncu pigmentler) lipofilik karakterliken, fikobilinler hidrofilik karakterdedir (Richmond, 2004). Tüm alglerde bulunan başlıca fotosentetik pigment klorofil-*a*’dır. Karotenoidler, mikroalgler tarafından üretilen, önemli pigment ve antioksidan kaynağı olarak bilinmektedir (Buono ve diğerkleri, 2014). Mavi-yeşil alglerde bulunan en önemli karotenoidler, β -karoten, zaeksantin, ketokarotenoidler (ekinenon ve kantaksantin) ve miksoksantofildir. Miksoksantofiller

yalnızca mavi-yeşil alglere özgü karotenoidlerdir (Schagerl ve Müller, 2006). Fikobiliproteinler ise, fikoeritrin, fikosiyenin, allofikosiyenin ve fikoeritrosiyenin olmak üzere özel bir mikroalg protein grubu fotosentetik pigmentlerdir (Samarakoon ve Jeon, 2012). Bu protein gruplarının, sakız, süt ürünleri, dondurma ve şekerleme gibi gıdalarda doğal renklendirici olarak kullanıldığı belirtilmiştir (Safafar, Van Wageningen, Möller, ve Jacobsen, 2015).

Mikroalgler yapılarında, proteinler, karbonhidratlar, lipidler, vitaminler, antioksidanlar ve diğer iz elementler gibi farklı biyolojik ve kimyasal bileşikleri içerirler. Alglerde bulunan depo polisakkaritlerinin bileşiminin türlerle yakından ilgili olduğu; mavi-yeşil alglerin (siyanobakteriler) glikojen (α -1,4-bağlı glukoz), kırmızı alglerin florid nişastası (nişasta ve glikojenin hibriti) ve yeşil alglerin ise amilopektin benzeri polisakkaritleri (nişasta) sentezlediği belirtilmiştir (Markou ve Georgakakis, 2011; Nakamura, Takahashi, Sakurai, Inaba, Suzuki, Nihei, , Fujiwara, Tsuzuki, Miyashita, Ikemoto, Kawachi, Sekiguchi ve Kurano, 2005). Nişasta, floridean nişasta ve glikojen arasındaki temel fark, alg hücrelerindeki farklı konumlarından ileri gelmektedir (Misurcova', Orsavova' ve Ambrozova', 2015). Patron ve Keeling (2005), nişasta sentezinin, yeşil alg dallanma enzimlerinin ve muhtemelen fosfoglukomutazın plastide yeniden konumlandırılması nedeniyle plastidlerde lokalize olduğunu, sentezlenen florid nişasta ve glikojenin ise sitozolde biriktiğini belirtmiştir. Karbonhidrat içeriği, yetiştirme ve besin eksikliği/sınırlaması, tuz varlığı, ışık yoğunluğu ve sıcaklık gibi çevresel faktörlerden etkilenmektedir.

Mikroalglerin beslenme amacı ile kullanılması fikri ilk kez, İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra ortaya atılmıştır (Becker, 2004). Dünyanın ilk mikroalg (*Chlorella*) çiftliği 1995'te Tokyo'da kurulmuştur. Fransız Petrol Enstitüsü, 1965'te *S. platensis*'in Aztek uygarlığı döneminde ve Çad gölü etrafında yaşayan yerliler tarafından uzun yıllardır yiyecek olarak tüketildiği ve halk hekimliğinde kullanıldığını gözlemlemiş ve mikroalgler üzerinde araştırmalar yapmaya başlamıştır (Erdin ve Erdin, 2016). Son yıllarda, Çin, ABD, Meksika, Tayland, Kaliforniya ve Tayvan gibi ülkelerde, mikroalglerin gıda sektöründe değerlendirilmesi ve ticari üretiminin yaygın olduğu bilinmektedir. Bu mikroalgler, polisakkaritler, lipidler, pigmentler, proteinler, vitaminler, biyoaktif bileşikler ve antioksidanlar gibi çeşitli biyoürünler üretebilmektedir (Richmond, 2004). FAO (2021) verilerine göre; dünyada doğadan toplanan ve yetiştirilen toplam alg miktarı 35.762,504 ton, mikroalg yetiştiriciliği üretimi ise toplam 56.456 tondur.

Yetiştiriciliği yapılan mikroalg türlerinde 56.208 tonla en çok üretilen *S. platensis*'tir (Cai, Lovatelli, Aguilar-Manjarrez, Cornish, Dabbadie, Desrochers ve Yuan, 2021; FAO 2021).

Ülkemizde ilk mikroalg kültür çalışması *Phaeodactylum tricornutum* (*P. tricornutum*) ile başlamış (Gökpınar, 1980) ve ilk defa açık havuzlarda *Spirulina platensis* (*S. platensis*) mikroalginin üretimi ise Ege Üniversitesi tarafından 1997-1998 yıllarında gerçekleştirilmiştir (Dalay, Cirik, ve Kuru, 2001). Bu yılları takiben, Çukurova ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversiteleri tarafından büyük ölçeklerde *S. platensis* üretimi gerçekleştirilmiştir (Gökpınar, Işık, Göksan, Durmaz, Uslu, Ak, Önalın ve Akdoğan, 2013). Çukurova Üniversitesi'nde mikroalglerin kültüre alınması sırasında besleyici element kompozisyonundaki değişiklikler, mevsime bağlı değişiklikler gibi çevresel faktörlerin protein, lipid, C vitamini (askorbik asit), E vitamini (α - tokoferol), β -karoten, yağ asidi kompozisyonu üzerine etkileri incelenmiştir (Uslu, Isik, Koç ve Göksan, 2011; Uslu, Işık ve Mutlu, 2012; Uslu, Işık, Sayın ve Durmaz, 2009).

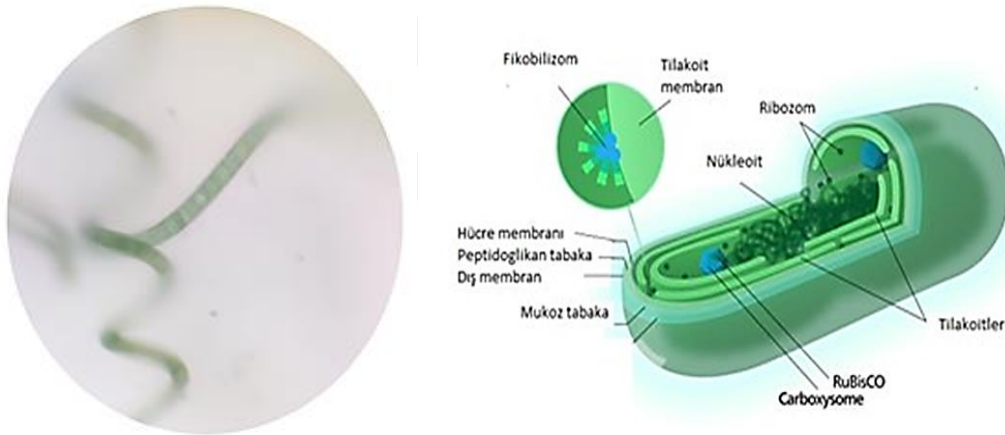
Mikroalgler, sağlıklı bir beslenme için gerekli proteinler, esansiyel amino asitler, karbonhidratlar, lipitler, vitaminler ve mineraller gibi besin öğelerini içeren yeterince araştırılmamış doğal bir kaynaktır. Mikroalgler ham protein bakımından zengin olmasının yanı sıra özellikle B12 vitamin miktarının çokluğu ile de dikkat çekmektedir. Proteince zengin mikroalgler bol miktarda Ca, Fe, Mg, K, Na, P ve S gibi mineral maddeleri içermektedir (Mazo, Gmshinskiı ve Zilova, 2004). Algler, renklerine göre fikosiyanın, β -karoten, klorofil *a*, *b* ve *c*, astaksantin, fikoeritrosin, ksantofil ve fukoksantin gibi çeşitli önemli pigmentler üretirler. Bu pigmentlerin bir kısmı gıda endüstrisinde renklendirici olarak kullanılmaktadır. Tüketicilerin sentetik renklendiriciler yerine doğal ürünlere yönelik artan talebi doğrultusunda, mikroalglerin doğal renklendiriciler için önemli bir kaynak oluşturduğu belirtilmektedir (Begum, Yusoff, Banerjee, Khatoon ve Shariff, 2016).

Doğada bulunma miktarı bakımından en önemli mikroalg grupları diyatomlar (*Bacillariophyceae*) ve yeşil algler (*Chlorophyceae*)'dir (Pina-Pérez, Rivas, Martínez ve Rodrigo, 2017). Diyatomlar, asitlere ve ısıya dayanıklı silika kabuğa sahip, deniz ve tatlı su ekosistemlerinin yanı sıra acı su, toprak ve hatta nemli yüzeylerde bulunan mikroskobik tek hücreli veya filamentli alglerdir ve sağlığa yararlı etkiler sağlayabilecek çok sayıda farklı bileşenler içermektedir (Andrianasolo, Haramaty, Vardi, White, Lutz ve Falkowski 2008; Foo, Yusoff, Ismail, Basri, Yau, Khong ve Ebrahimi, 2017; Neumann, Derwenskus, Flaiz

Flister, Schmid-Staiger, Hirth ve Bischoff, 2019; Rico, López, Santana-Casiano, González, ve González-Dávila, 2012).

1.1. *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*)

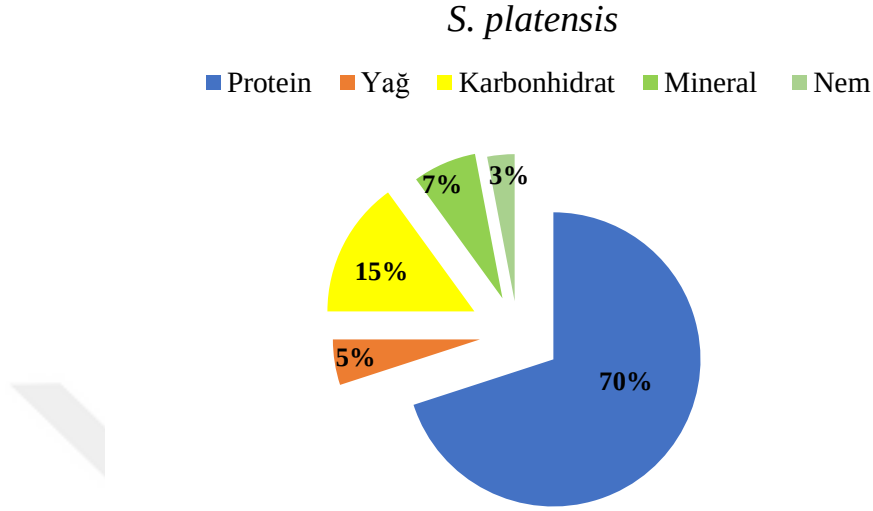
S. platensis, yaklaşık filamentli, tek hücreli ve prokaryotik bir mikroalgdir. Sıcak bölgelerdeki göllerin alkali sularında doğal olarak gelişmektedir. Bu olağanüstü doğal besin antik çağlardan beri önemli bir besin kaynağı olarak tüketilmektedir (Şekil 1.1). Özellikle son yıllarda araştırmacılar besin değeri yüksek olması nedeniyle *S. platensis*'e büyük ilgi göstermektedir. Mikroalgler yapılarında mitokondri, endoplazmik retikulum, golgi cisimciği, çekirdek ve koful gibi organellerin bulunmamasından dolayı prokaryotik olarak sınıflandırılmaktadır. Fotosentetik organizmalar olduğu için bitkilere, hücre çeperlerinde peptidoglikan tabakası içermesi dolayısıyla bakterilere benzetilmektedir (Richmond, 1986).



Şekil 1.1. *S. platensis*'in mikroskop görüntüsü ve mikroalglerin genel hücre yapısı (freshspirulina.com)

Diğer bitkisel kaynaklı proteinlerin aksine *S. platensis*, valin, triptofan, lösin, izolösin, fenilalanin, metiyonin, treonin ve lizin gibi esansiyel, prolin, glisin, sistein, arjinin, tirozin, alanin, glutamin, serin, glutamat ve aspartat gibi esansiyel olmayan amino asitleri dengeli bir biçimde içeren protein yapısına sahiptir. Yapısında yaklaşık olarak %50 ile 70 arasında protein içermektedir (Şekil 1.2) (Colla, Reinehr, Reichert ve Costa, 2007; FAO, 2008; Saranraj ve Sivasakthi 2014). *S. platensis* %86'sı sindirilebilir polisakkaritlerden meydana gelen, sert ve selüloz içermeyen hücre duvarına sahiptir. Bu nedenle insanlar tarafından kolayca sindirilebilmektedirler (Li ve Qi, 1997). *S. platensis* yapısında %15-20 oranında

karbonhidrat (sakkaroz, fruktoz, glikoz ve mannitol) içermektedir. Son çalışmalarda, *S. platensis*'te kalsiyum spirulanın (Ca-SP) olarak adlandırılan yeni bir sülfatlanmış polisakkarit belirlenmiştir (Pyne, Bhattacharjee ve Srivastav, 2017).



Şekil 1.2. *S. platensis*'in biyokimyasal kompozisyonu

S. platensis %7 oranında lipit içermekte ve bunun da yüksek miktarını çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) oluşturmaktadır. İnsan vücudunda sentezlenemeyen vitamin benzeri maddeler, esansiyel yağ asitleri (EFA) olarak da adlandırılmaktadır. Linoleik, linolenik ve araşidonik asitleri içeren esansiyel yağ asitleri (EFA) sağlıklı bir yaşam için önemlidir. Ravi, Lata Da, Azharuddin ve Paul (2010) tarafından EFA'nın, toplam kolesterol ve trigliserit düzeylerini (arterioskleroz ve kalp hastalığı ile ilişkili) azaltmaya yardımcı olduğu belirtilmiştir. Hücre zarı büyük ölçüde lipitlerden meydana gelmektedir, E ve A vitaminleri yapıda mevcut olduğunda, lipitlerin hücre zarını serbest radikallere karşı koruduğu tespit edilmiştir (Mathur, 2018). Serbest radikaller, hücre zarlarına zarar vererek besinlerin emilimini etkileyebilmektedir. Hücre zarında meydana gelen bu hasar, antijenleri değiştirebileceğinden, bağışıklık sisteminin zayıflamasına neden olabilir. Bununla birlikte *S. platensis*'in önemli miktarda esansiyel ve doymamış yağ asitlerinden biri olan γ -linoleik asit (GLA) içerdiği ve hücre membranının önemli bir bileşeni olduğu belirtilmiştir (Adarme-Vega, Lim, Timmins, Vernen, Li ve Schenk, 2012). γ -linolenik asit vücutta prostaglandine dönüşerek bağışıklık sistemi üzerinde güçlü bir koruyucu etkiye sahip olduğu (immunoprotektör) bilinmektedir. *S. platensis*'in özellikle tiyamin (B1), riboflavin (B2), nikotinamid (B3), pridoksin (B6), folik asit (B9), siyanokobalamin (B12), C vitamini, D

vitamini, E vitamini (tokoferol) ve provitamin A (β -karoten) bakımından zengin olduğu, β -karoten içeriğinin havuçtan yüksek olduğu ve güçlü bir E vitamini kaynağı olduğu bilinmektedir (Mathur, 2018).

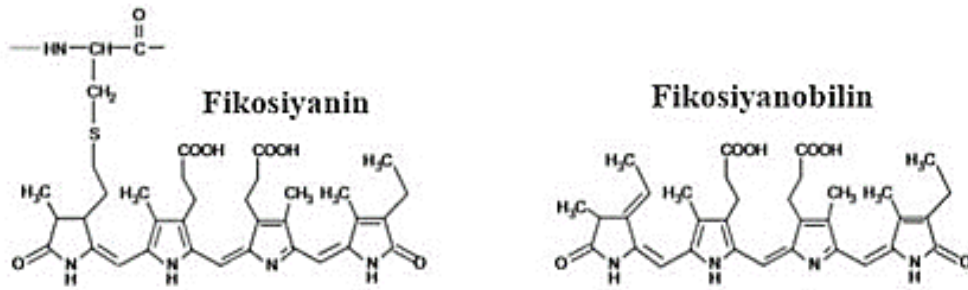
Mineraller, sağlıklı bir yaşam için vücudun çeşitli işlevlerini yerine getiren önemli inorganik besinlerdir ve *S. platensis*'te yüksek miktarda demir, çinko, sodyum, fosfor, potasyum, manganez, bakır, magnezyum ve kalsiyum olduğu bildirilmiştir (Pyne ve diğerleri, 2017). Antioksidan özelliğe sahip olduğu bilinen bu minerallerin ve vitaminlerin özellikle de kansere karşı korumada etkili oldukları, bağışıklık sistemini uyardıkları ve yaşlanmayı geciktirdikleri belirtilmiştir (Henrikson, 2000).

S. platensis yüksek ekonomik değere sahip olan ve kuru ağırlığın yaklaşık %20' sini oluşturan C-fikosiyanin (mavi pigment) ve allofikosiyanin gibi fikobiliproteinlere ek olarak, klorofil, karotenoidler (lutein, α -karoten, euglenanon, β -karoten), zantofiller (ekinenon, miksozantofil ve kriptoksantin,) ve zeaksantin (sarı pigment) gibi aktif fitokimyasalları da yapısında yüksek oranda bulundurmaktadır (El-Baz, El-Senousy, El-Sayed ve Kamel, 2013). *S. platensis* yapısında, karotenoid (turuncu), fikosiyanin (mavi) ve klorofil (yeşil) pigmentlerini bulundurmaktadır (Wu, Liu, Miron, Klímová, Wan ve Kuča, 2016). Hücreler yeşil renkli klorofil a ile mavi renkli fikosiyanin pigmentinin (Şekil 1.3) baskınlığı nedeni ile karakteristik mavi-yeşil renkte görülmektedir (Park, Kim, Li, Lim, Kim, Kwak, Kang, Ferruzzi ve Ahn, 2018).



Şekil 1.3. *S. platensis*'in pigment kompozisyonu

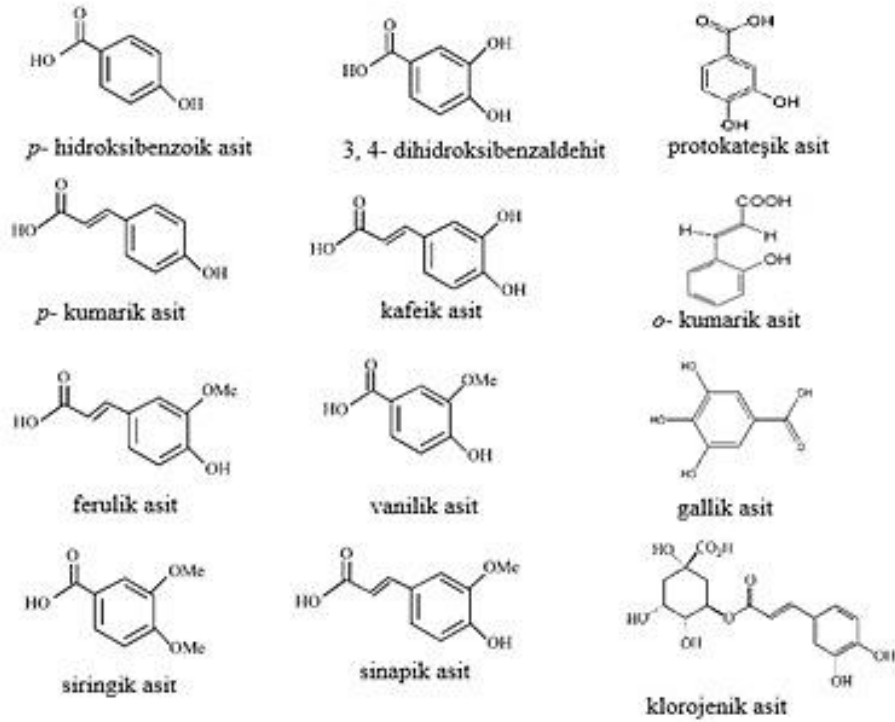
Fikosiyanin (FSB) kromoforu, proteinin prostetik grubu olarak kabul edilmekte ve dört pirol halkasından oluşan doğrusal bir tetrapirel yapısı sergilemektedir. Bu yapı fikosiyaninin yapısını oluşturmak için farklı bölgelerden sistein amino asidine bağlanmaktadır. Bu pigmentin, toksik madde veya radyasyondan zarar gören beyaz kan hücrelerini ve kemik iliği hücrelerini iyileştirdiği, insan ve hayvanlarda bağışıklık sistemini harekete geçirdiği savunulmaktadır (Chethana, Nayak, Madhusudhan ve Raghavarao, 2015). Protein kısmı, α (18.000 Da) ve β (20.000 Da) alt birimlerinden oluşmaktadır ve pH 5-8 aralığında oldukça kararlı bir yapı sergilemektedir (Chethana ve diğerleri, 2015). Şekil 1. 4'te fikosiyaninin kimyasal yapısı verilmiştir. Fikosiyaninin gıdalarda renklendirici olarak kullanılmakta ve ayrıca antioksidan, antikanser, nöroprotektif, antienflamatuar, hepatoprotektif ve hipokolesterolemik özellikler gibi çeşitli farmakolojik aktiviteler sergilemektedir (Ismaiel, El-Ayouty ve Piercey-Normore, 2016; Ismaiel ve Piercey-Normore, 2020; Kuddus, Singh, Thomas ve Ali, 2015; Li, Cheng, Wong, Fan, Chen ve Jiang, 2007; Mathur, 2018). Piñero Estrada, Bermejo Besco's ve Villar del Fresno (2001), *S. platensis*'de bulunan fikobiliproteinlerin, fikosiyanin ve allofikosiyaninin antioksidan aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir.



Şekil 1.4. Fikosiyanin ve Fikosiyanobilin kimyasal yapısı

Klorofilden sonra doğada en yaygın olarak bulunan renk pigmentleri karotenoidlerdir. Bunlar genellikle bitkiler, fotosentetik bakteriler ve algler tarafından sentezlenen, bitki ve hayvan ürünlerine sarıdan kırmızıya rengini veren, yağda çözünebilir bileşiklerdir (Hernández-Ledesma ve Herrero 2013). Karotenoidler, özellikle singlet oksijen söndürücüleri (serbest radikalleri) etkisiz hale getirme ve hapsedme yeteneklerinden dolayı antioksidanlar olarak kabul edilirler (Safar ve diğerleri, 2015).

S. platensis'te bulunan önemli biyoaktif bileşik gruplarından bir diğeri, aromatik halkaya doğrudan bağlı bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren fenolik bileşiklerdir. Biyoaktif özellikli bu bileşikler, en önemli doğal antioksidanlardan biri olarak kabul edilmektedir ve genellikle tahıllar, sebzeler, meyveler, çay, kahve ve baharatlar gibi bitkilerle ilişkilendirilmektedir. Ancak, alglerin de zengin bir polifenol kaynağı olduğu bilinmektedir (Şekil 1.5). (Ferrerres, Lopes, Gil-Izquierdo, Andrade, Sousa, Mouga ve Valentão, 2012; Heffernan, Brunton, FitzGerald ve Smyth, 2015; Klejdus, Kopecký, Benešová ve Vacek, 2009). *S. platensis*'te fenolik asitler olarak, benzoik asit türevleri (*p*- hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, vanilik asit, gallik asit, siringik asit), sinnamik asit türevleri (*o*- ve *p*- kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit, sinapik asit ve klorojenik asit) ve hidroksibenzaldehitler (3, 4- dihidroksibenzaldehit, 4- hidroksibenzaldehit) bulunmaktadır (Goiris, Muylaert, Voorspoels, Noten, De Paepe, E Baart ve De Cooman 2014; Haoujar, Cacciola, Abrini, Mangraviti, Giuffrida, Oulad El Majdoub ve Skali Senhaji, 2019; Klejdus ve diğerleri, 2009; Seghiri, Kharbach ve Essamri, 2019; Scaglioni, Quadros, de Paula, Furlong, Abreu ve Badiale-Furlong, 2018).

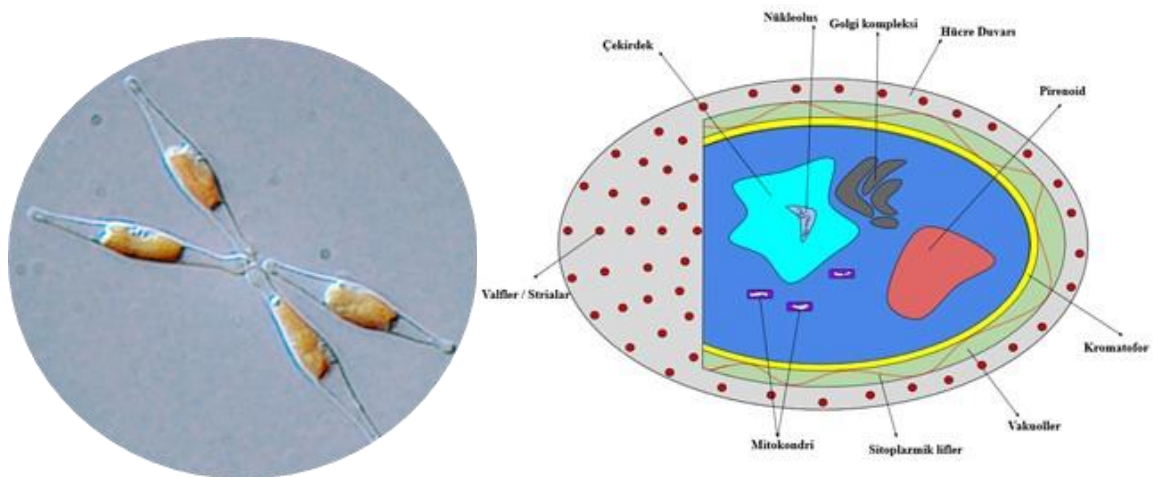


Şekil 1.5. *S. platensis*'te bulunan fenolik bileşikler

Scaglioni ve diğerkleri, (2018) yaptığı çalışmada *S. platensis*'te fenolik bileşikler olarak trans-sinamik, salisilik, klorojenik ve gallik asit bulunduğı belirtilmiştir. Arnhold Pagnussatt, Medeiros Del Ponte, Garda-Buffon ve Badiale-Furlong, (2014) ile Souza, Prieto, Ribeiro ve Souza, (2011) tarafından yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında benzer fenolik bileşikler bulunduğı ifade edilmiştir. *S. platensis* 'in antioksidan özelliğinin, fenolik asitler, β -karoten ve tokoferollerin varlığından kaynaklandığı bildirilmiştir (Henrikson, 2000). Sekonder metabolitlerden olan fenolik bileşikler, biyotik (patojen etkileşimi) ve abiyotik (UV ışınlaması) strese koşullarına karşı alg hücresinin savunmasında önemli bir rol oynamakla birlikte bilinen birçok farmakolojik etki ve biyolojik özelliğe sahiptir (Li ve diğerkleri 2007; Zhang, Duan, Huang, Zhang ve Wang, 2006).

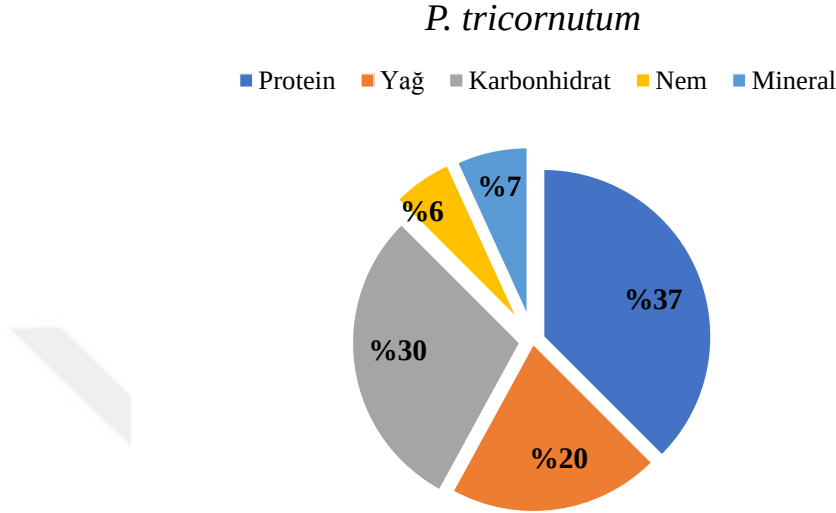
1.2. *Phaeodactylum tricornutum* (*P. tricornutum*)

Diyatomlar, fotosentezle (fotoototroflar) küresel karbondioksit fiksasyonunun yaklaşık %20-25'inden sorumlu olan tek hücreli ökaryotlardır (Falkowski, Barber ve Smetacek, 1998). *P. tricornutum*, Pennateae grubuna ait bir diyatom türüdür ve tatlı su türü olmasına rağmen deniz ortamlarında yaşayabilmektedir. Genomunun dizilenmesi ve yeşitiriciliğinin kolay olması nedeniyle sıklıkla model organizma olarak kullanılmaktadır (De Martino, Meichenin, Shi, Pan ve Bowler, 2007). Hücre merkezinde kahverengi kromotofor ve büyük bir golgi cisimciğı bulunmaktadır. Şekil 1. 6'da çalışmada kültüre alınan *P. tricornutum*'un mikroskop görüntüsü ve hücre yapısı verilmiştir.



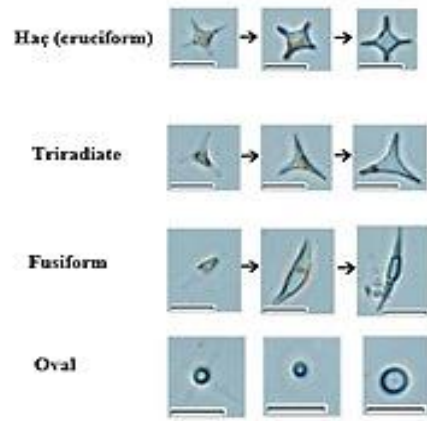
Şekil 1.6. *P. tricornutum*'un mikroskop görüntüsü ve diyatomların genel hücre yapısı (<https://www.biologyonline.com>)

P. tricornutum kuru ağırlık bazında %37 protein, %30 karbonhidrat, %20 yağ, %6 nem ve %7 mineral madde içermektedir (Şekil 1.7). *P. tricornutum* düşük silika içeriğine ve farklı hücre duvarı yapılarına sahip, oval, fusiform, haç ve triradiate (Şekil 1.8) biçiminde olmak üzere dört farklı morfolojik yapı sergilemektedir (He, Han ve Yu, 2014).



Şekil 1.7. *P. tricornutum*'un biyokimyasal kompozisyonu

Oval, fusiform ve triradiate form yaygın olarak gözlenirken, cruciform (haç) yapıda hücreler nadir olarak gözlenir ve düzensiz olarak kabul edilmektedir (He ve diğerleri, 2014). Silikon içeren tek morfotipin oval hücreler olduğu ve en dışta bir hücre dışı polimer ve pürüzlü yüzey tabakasının bulunduğu tespit edilmiştir. Fusiform yapı ise hücre içi vakuollere ve uzatılmış iğ şekline sahiptirler (Chen, Yang, Li, Wang, Zhang, Wang ve Ge, 2014). Yetiştirme koşullarındaki tuzluluk, sıcaklık ve ışık gibi faktörler morfotipler arasındaki dönüşümü tetiklemektedir (Bartual, Villazan, ve Brun, 2011; De Martino, Bartual, Willis, Meichenin ve Villazan, 2011). Triradiate ve fusiform formlar yalnızca doğal ortamdan izole edilirken, oval form ise hücre kültüründe bulunmuştur (De Martino ve diğerleri, 2011). Lipid ve protein ile ekzopolisakkarit içeriği farklı morfotiplerde değişiklik göstermektedir.



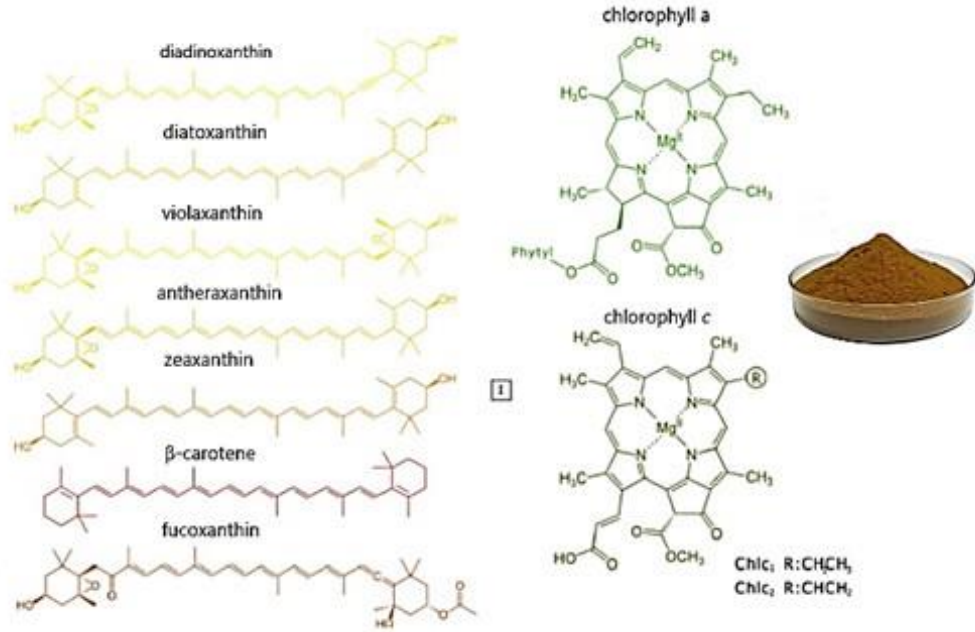
Şekil 1.8. *P. tricornutum*'un farklı morfolojik formları (He ve diğerleri, 2014)

P. tricornutum'un hücre duvarının sülfatlanmış glukuronomannandan oluştuğu ve silika miktarının oldukça düşük olduğu bilinmektedir. Polisakarit omurgası, mannan zincirine sülfat ester grubunun bağlanması ile oluşmaktadır. Optik rotasyon ölçümü polisakkaridin esas olarak α -bağlı kalıntılar içerdiğini göstermekte ancak tüm glikozidik bağlantıların konfigürasyonu henüz açıklığa kavuşturulamamıştır (Le Costaouec, Unamunzaga, Mantecon ve Helbert, 2017). Ayrıca, optimum koşullar altında yüksek büyüme hızına sahip olması, eikosapentaenoik asit ve fukoksantin içeriği sayesinde farmasötik, biyoyakıt, gıda ve kozmetik alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Kwak, Kang, Bae, Hur, Kin, Park ve Lee, 2014; Perez, Pina ve Rodriguez, 2008).

P. tricornutum'un, uzun zincirli doymamış yağ asitlerini (PUFA) %30-45 oranında içerdiği ve bunun da %20-40'ını eikosapentaenoik asitin (EPA) oluşturduğu bilinmektedir (Fajardo, Cerdan, Medina, Fernández, Moreno ve Grima, 2007). EPA yüksek kolesterol tedavisinde, kalp ve damar hastalıklarında ve romatizma riskinin azaltılmasında etkili olan önemli bir doymamış yağ asididir (Fajardo ve diğerleri, 2007). *P. tricornutum*, kolay kültürlenme, hızlı büyüme, mükemmel yağ asidi bileşimi ve yüksek lipid içeriği gibi özellikleri nedeniyle biyoyakıt üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Diyatomların pigment profilleri yeşil algler ve kara bitkilerinde bulunan pigmentlerden oldukça farklılık göstermektedir. Fotosentetik organizmalarda birkaç çeşit klorofil bulunurken diyatomlarda sadece klorofil-*a* ve klorofil-*c* olmak üzere iki form bulunmaktadır (Green, 2011). Klorofil-*c*, yüksek bitkilerin klorofil-*b* formuna benzer şekilde, fotosenteze etkili bir şekilde katılırken, baskın klorofil-*a* formu, fotosentez yapan organizmaların çoğunun fotokimyasal enerji dönüşümünde merkezi bir rol oynamaktadır (Gelzinis, Butkus, Songaila,

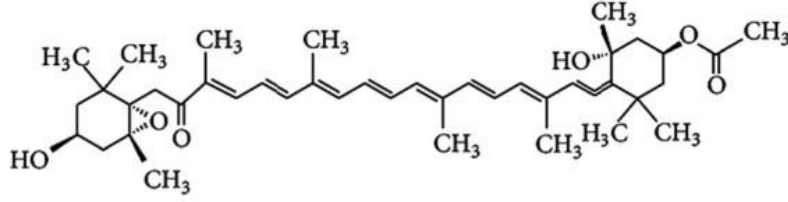
Augulis, Gall, Büchel, Robert, Abramavicius, Zigmantas ve Valkunas 2015). Bitkiler, mikroorganizmalar ve alglerde 700'den fazla karotenoid bileşiği tanımlanmıştır (Britton, Liaaen-Jensen ve Pfander, 2004). Diyatomlarda, klorofil-*a*, klorofil-*c* ve fukoksantin gibi pigmentlerinin yanı sıra, ksantofil döngüsüne katılan diatoksantin, diadinoksantin, ksantofiller, zeaksantin, violaksantin, anteraksantin ve β -karoten (Şekil 1.9) gibi foto-koruyucu karotenoidler bulunmaktadır (Gelzinis ve diğerleri, 2015).



Şekil 1.9. *P. tricornutum*'un pigment kompozisyonu

Fukoksantin (Şekil 1.10), molekülünde karbonil, epoksit, konjuge, allenik ve asetil gruplarına sahip bir ksantofil, provitamin olmayan bir karotenoid olarak bilinmekte ve kahverengi alg ve diyatomlarda yaygın olarak bulunmaktadır (Haugan, Aakermann ve Liaaen-Jensen, 1992). Fukoksantin yapısında bulunan allenik bağ ilk olarak kahverengi deniz yosunlarında keşfedilmiştir (Dembitsky ve Maoka, 2007). Bu bağ yapısının yüksek antioksidan üretiminden sorumlu olduğu belirtilmiştir (Sachindra, Sato, Maeda, Hosokawa, Niwano, Kohno ve Miyashita, 2007). Fukoksantin diyatomlarda bulunan önemli bir pigmenttir ve özellikle doğada deniz ortamlarında bol miktarda bulunmaktadır (Peng, Yuan, Wu ve Wang, 2011). Yapılan çalışmalar fukoksantin güçlü antioksidan, antienflamatuar, antiobesite, antidiyabetik, antikanser ve antihipertansif aktiviteler sergilediğini göstermiştir (Peng ve diğerleri, 2011; Xia, Wang, Wan, Li, Hu ve Zhang, 2013). Fukoksantin ısı, düşük pH ve

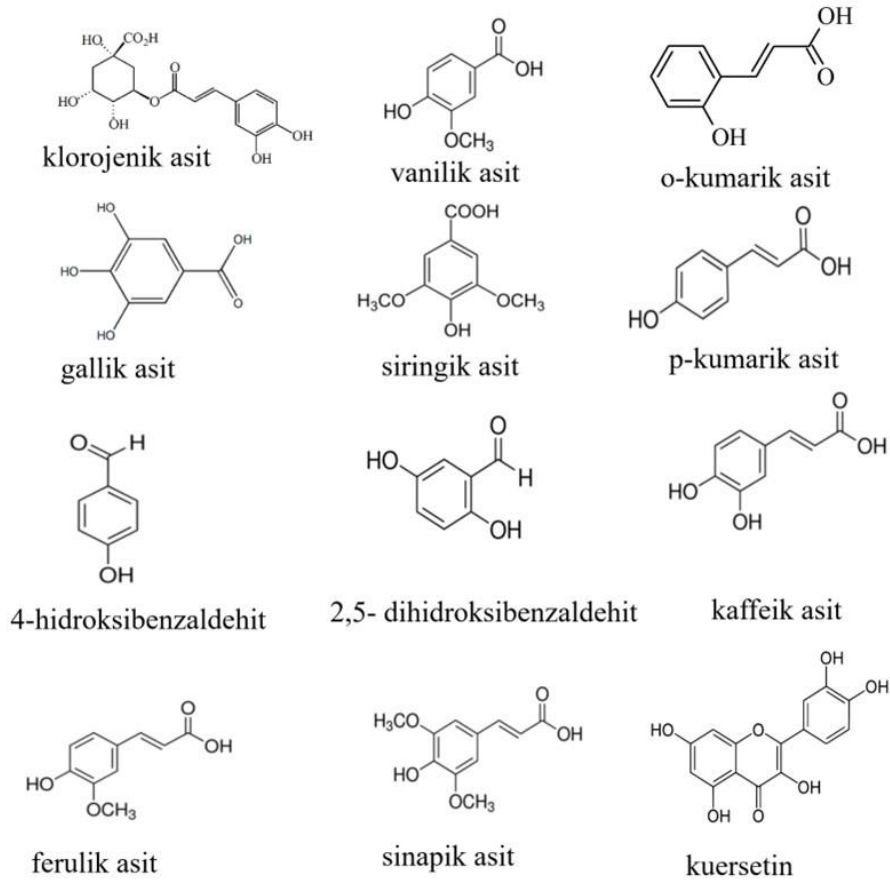
ışığa maruz kaldığında bozunmaya karşı oldukça duyarlı olduğu belirtilmiştir (Mercadante, 2008).



Şekil 1.10. Fukoksantin kimyasal yapısı (Zarekarizi, Hoffmann ve Burritt, 2018)

Karotenoidler ise, klorofilden sonra doğada en yaygın olarak bulunan renk pigmentleridir. Bitkiler, fotosentetik bakteriler ve algler tarafından sentezlenen, yağda çözünen, bitkisel ve hayvansal ürünlere sarıdan kırmızıya kadar renk veren bileşiklerdir (Hernández-Ledesma ve Herrero, 2013). Serbest radikalleri, özellikle singlet oksijen inhibitörlerini nötralize etme ve yakalama yeteneklerinden dolayı bir antioksidan olarak kabul edilmektedirler (Goiris ve diğerleri, 2014; Landete, 2013; Safafar ve diğerleri, 2015). Gıdalar, metabolik aktivite için gerekli olan ve sağlık açısından olumlu etkileri olan farklı bileşenler içermektedirler. Antioksidanlar bu bileşenlerin başında gelmektedir. Dengeli bir beslenmede, diyetle alınan antioksidanlar ayrı bir öneme sahipken, sağlıksız bir beslenmede, vücuttaki birçok sistem etkilenebildiği gibi serbest radikal oluşumu da artabilmektedir. Antioksidanlar vücutta serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltan veya ortadan kaldıran bileşiklerdir (Davies, 2000; Hasler, 2000).

Mikroalgler, antioksidan aktiviteden sorumlu olan biyoaktif bileşikleri, özellikle karotenoidleri ve fenolik asitleri içermekte ve *P. tricornutum*'un fenolik bileşikleri üzerine sınırlı çalışma bulunmaktadır. *P. tricornutum*'da fenolik asitler arasında hidroksibenzaldehitler (2,5-dihidroksibenzaldehit, 4-hidroksibenzaldehit), benzoik asit türevleri (gallik asit, protokateşik asit, siringik asit, vanilik asit) ve sinamik asit türevleri (kafeik asit, *o*- ve *p*-kumarik asit, sinapik asit, ferulik asit, klorojenik asit) bulunmaktadır (Şekil 1.11) (Goiris ve diğerleri, 2014; Rico ve diğerleri, 2012). Foo ve diğerleri (2017) ise, *P. tricornutum*'da 2,5-dihidroksibenzaldehit, ferulik asit, 4-hidroksibenzaldehit, kafeik asit, sinapik asit, rosmarinik asit, gallik asit ve klorojenik asit bileşiklerini tespit etmişlerdir (Foo ve diğerleri, 2017).



Şekil 1.11. *P. tricornutum*' da bulunan fenolik bileşikler

Hücrede fenolik bileşikler, serbest form, ekstrakte edilebilir-konjuge form ve ekstrakte edilemeyen-bağlı form olmak üzere 3 farklı formda bulunmaktadır (Nayak, Liu ve Tang, 2015). Serbest formdaki fenolikler hücredeki vakuollerin içine hapsolmuş durumdayken, konjuge formdaki fenolikler yapısındaki aromatik halka ve hidroksil grupları (-OH) sayesinde glikozitlere veya düşük molekül ağırlıklı bileşenlere esterleşebilmektedirler (Saura-Calixto, 2012). Bağlı fenolikler ise hücre duvarındaki protein, pektin ve selüloz, gibi yapılara asetal, eter veya ester bağlarıyla kovalent olarak bağlanabilmektedirler. Hücre duvarı matriksini sindirmenin zor olması nedeniyle bağlı fenolikler mide-bağırsak sisteminde değişime uğramadan kolona ulaşabilmektedir. Bu nedenle hücre duvarı matriksinin veya yapıda bulunan kovalent bağların parçalanarak bağlı fenoliklerin salınımının sağlanması gerekmektedir (Arranz, Silván ve Saura- Calixto 2010; Shahidi ve Yeo, 2016). Fenolik bileşikler, tek elektron transferi ve hidrojen atom transferi yoluyla antioksidan görevi görerek önemli biyoaktif özellikler sergilemektedirler (Foo ve diğerleri, 2017; Goiris ve diğerleri, 2012; Haoujar ve diğerleri, 2019; Neumann ve diğerleri, 2019).

Organik asitler, amino asitlerin katabolizması, trikarboksilik asit döngüsü ve nörotransmitterlerin yanı sıra kolesterol biyosentezi gibi çeşitli hücre içi metabolik yollarda fizyolojik ara ürünler olarak oluşan mono-, di- ve trikarboksilik asitlerin bir grubunu içermektedir (Kölker, 2014). Organik asitler, birçok bitkisel kaynaklı gıdada bulunan ve gıdaların fermentasyonu sırasında oluşan doğal bileşiklerdir. Amitler, esterler ve peptitler gibi gruplarda kovalent olarak bağlı olabilen bir veya daha fazla karboksilik asit grubu içerirler (Papagianni, 2011). Organik asitler, gıda kaynaklı patojenlerin yanı sıra bozulmaya neden olan mikroorganizmaların büyümesini inaktive eden veya inhibe eden asit düzenleyiciler, aroma vericiler veya koruyucular olarak gıdalara sıklıkla eklenir. Yaygın olarak kullanılan bazı organik asitler arasında asetik, laktik, sitrik, malik ve askorbik asit bulunmaktadır (Gurtler ve Mai, 2014). Literatürde *S. platensis* ve *P. tricornutum*'un organik asit içeriği ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Aroma, burun boşluğundaki koku reseptörleri tarafından tespit edilebilen uçucu bileşiklerdir (Genovese, Caporaso, Luca, Paduano ve Sacchi, 2015; Yaparel ve Elmacı, 2016). Koku, uçucu bileşenlerin doğrudan burunla algılanması, tat ise uçucu olmayan bileşenlerin dil ile algılanmasıdır. Mikroalglerin, biyokütlenin lezzetini veya aromasını etkileyen doymamış aldehitler, dimetil sülfid ve organohalojenler gibi geniş bir dizi uçucu bileşik ürettiği bilinmektedir (Andrade, Lauritano, Romano ve Ianora, 2018). Son yıllarda mikroalg kaynaklı uçucu bileşiklere olan ilgi, esas olarak uçucu bileşiklerin çeşitli yapısal özellikleri ve ilginç biyolojik aktiviteleri nedeniyle artmıştır (Andrade ve diğerleri, 2018). *S. platensis* ve *P. tricornutum*'da bulunan uçucu bileşikler hakkında sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

S. platensis ve *P. tricornutum* da uçucu bileşikler üzerine tuzluluğun etkisini araştıran çalışma olmadığından literatür değerlendirmesinde bitki yetiştirme koşullarındaki tuzluluğun bitkilerdeki uçucu bileşikler üzerine etkisi incelenmiştir. Farklı tuzluluğa sahip toprakta yetiştirilen bitkilerde yapılan çalışmalarda, bazı uçucu bileşiklerin miktarının arttığı bazılarının ise azaldığı tespit edilmiştir (Chrysargyris, Loupasaki, Petropoulos ve Tzortzakakis 2019; Petretto, Urgeghe, Massa ve Melito 2019; Said-Al Ahl, Meawad, Abou-Zeid ve Ali, 2010). Bu amaç doğrultusunda yeni potansiyel su ürünü olan *S. platensis* ve *P. tricornutum*'un farklı tuz oranlarında kültüre alınması ile antikanser, antioksidan, antienflamatuar, nöroprotektif, hepatoprotektif, hipokolesterolemik özelliğe sahip biyoaktif bileşiklerin karakterizasyonu yapılarak hem sağlık hem AR-Ge, hem de tarım alanında yenilik faaliyetlerine katkı sağlaması hedeflenmiştir.

Sıcaklık, tuzluluk, ışık ve besin maddeleri gibi çeşitli çevresel faktörler mikroalglerin büyümesini ve biyokimyasal bileşimlerini etkilemektedir (Guedes, Meireles, Amaro ve Malcata, 2010; Liang, Beardall ve Heraud, 2006). *S. platensis* ve *P. tricornutum*'un gelişmesinde azot ve tuzluluk faktörlerinin fenolik bileşikler üzerine etkisi ile ilgili sınırlı çalışma mevcuttur. Kültür ortamında azot miktarının artırılması veya azaltılmasının fenolik bileşikler üzerine olumsuz etkisi olduğu yapılan literatür taraması ile belirlenmiş ve azot faktöründen vazgeçilmiştir (Abd El-Baky, El Baz ve El-Baroty, 2009; Blagojević, Babić, Rašeta, Šibul, Janjušević ve Simeunović, 2018). Bu sonuç doğrultusunda alglerin gelişmesi üzerine tuz faktörünün etkisi ele alınmıştır. Alglerdeki fenolik bileşikler üzerine tuzluluğun etkisini araştıran çalışma olmadığından literatür değerlendirmesinde bitki yetiştirme koşullarındaki tuzluluğun bitkilerdeki fenolik bileşikler üzerine etkisi incelenmiştir. Tuzluluk ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda fenolik bileşiklerin arttığı (Bistgani, Hashemi, Dacosta, Craker, Maggi ve Morshedloo, 2019; Lim, Park, Kim, Jeong ve Kim, 2012; Rezazadeh, Ghasemnezhad, Barani ve Telmadarrehei, 2012; The Minh, Khang, Thu Ha, Thi Tuyen, Minh, Quan ve Xuan, 2016) gözlemlenirken, bazı çalışmalarda ise azaldığı (Bourgou ve diğerleri., 2010; Kim ve Lee 2018; López-Berenguer, Martínez-Ballesta, Moreno, Carvajal ve García-Viguera, 2009) bilgisi sunulmuştur. Bu nedenle, bu tez çalışmasında tuz faktörünün alglerdeki fenolik bileşikler üzerine etkisi araştırılmıştır.

Bu çalışma ile, ticari açıdan en yaygın olarak yetiştirilen iki alg türünün (*S. platensis* ve *P. tricornutum*) büyüme ortamlarının farklı tuz oranları ile hücre yoğunluğu ve pigmentlerinin yetiştirme sırasında nasıl değiştiğinin ve hasattan sonra organik asit ve şeker içeriklerinin, antioksidan kapasite ve biyoaktif bileşiklerin biyoerişebilirliğinin ne yönde değiştiğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Literatürde, yetiştirme ortamının tuz içeriğinin *S. platensis* ve *P. tricornutum*'un büyümesi, aroma bileşikleri, organik asit içerikleri, antioksidan kapasiteleri, fenolik profilleri ve biyoaktif bileşenlerinin biyoerişebilirlikleri üzerindeki etkilerine dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma bu amaçla ele alınmış ve farklı tuz oranlarının *S. platensis* ve *P. tricornutum*'un önemli kalite parametreleri üzerine etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Tez çalışması kapsamında antioksidan kapasite DPPH, ABTS ve CUPRAC olmak üzere üç farklı yöntemle belirlenmiştir. Aroma bileşikleri gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile analiz edilirken, amino asitler, organik asitler ve şeker bileşimleri refraktif indeks (RID) ve fotodiyot array dedektörlü (PDA) yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-RID-PDA) ile incelenmiştir. Çalışmada fikosiyanin ve fukoksantin pigmentlerindeki değişimler ise spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

Türkiye’de açık hava şartlarında *S. platensis* alginin yoğun kültürü üzerine yapılan ilk deneme 1997-1998 yıllarında Ege Üniversitesi tarafından (Dalay ve diğerleri, 2001), bu yılları takiben, büyük ölçeklerde *S. platensis* üretimi Çukurova ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversiteleri tarafından gerçekleştirilmiştir (Gökpınar ve diğerleri, 2013).

S. platensis yapısında proteinler (%55-70), vitaminler ve mineraller (Fe ve Ca), ve ayrıca bağışıklık sistemini güçlendiren pigmentler (klorofil, karoten ve fikosiyenin) içermesi nedeniyle insanlar için potansiyel bir gıda takviyesi olarak kullanılmaktadır (Hongsthong ve Bunnag, 2009).

S. platensis’in önemli miktarda esansiyel ve doymamış yağ asitlerinden biri olan γ -linoleik asit (GLA) içerdiği ve hücre membranının önemli bir bileşeni olduğu belirtilmiştir (Fox, 1996; Horrobin, 1992).

Raghavan, Haridevi ve Gopinathan (2008), laboratuvar koşullarında farklı sıcaklık (20-25 °C), farklı tuzluluk (%25-30) ve CO₂ ile havalandırma koşullarında *Chaetoceros calcitrans*’ı kültüre almışlar ve büyüme, karbohidrat, lipid ve protein içeriklerini incelemişlerdir. Kuru madde değerleri, tuzluluk ve sıcaklığa bağlı stres koşullarından çok az etkilenmiştir. Yüksek tuzluluk ile karbohidratta artış meydana gelirken, protein ve lipid oranlarında azalmalar gözlenmiştir.

S. platensis’in protein kaynağı olarak potansiyel kullanımının araştırıldığı çalışmada *S. platensis*’ten ekstrakte edilmiş proteinin, hayvansal ve bitkisel kaynaklı proteinlerle kıyasla yüksek besin kalitesine sahip olduğu ve bu yüzden insanlarda protein eksikliği göz önüne alındığında, alternatif protein kaynağı olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Lupatini, Colla, Canan ve Colla, 2017).

P. tricornutum ise, tek hücreli, dört farklı morfolojik formda (oval, fusiform traradiate ve haç) gözlemlenebilen, tatlı su türü olmasına rağmen deniz ortamında da yaşayabilen diyatom türüdür (He ve diğerleri, 2014). İçerdiği protein (%37), karbonhidrat (%30) ve uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin (PUFA) (%20) yanı sıra antioksidan, anti-enflamatuvar, anti-diyabetik, anti-kanser, kardiyovasküler sistemi koruyucu etkileri bulunan fukoksantin pigmentini yapısında bulundurması *P. tricornutum*’un ticari amaçla üretimi ve kullanımını yaygın hale getirmektedir.

S. platensis, diğer bitki kaynaklı proteinlerin aksine, esansiyel ve esansiyel olmayan amino asitleri dengeli bir biçimde içeren protein yapısına sahip olduğu bildirilmiştir (Colla vd., 2007; FAO, 2008; Saranraj ve Sivasakthi 2014).

Klorofil ve karotenoid pigmentleri “lamella” adı verilen hücre yüzeyi membranında, fikosiyanın ve fikoeritrin gibi pigmentler ise tilakoit membranın yüzeyinde bulunan fikobilizomlarda bulunurlar (Eriksen, 2008).

Piñero Estrada ve diğerleri (2001), *S. platensis*’te bulunan fikobiliproteinlerin, fikosiyanın ve allofikoosiyanın antioksidan aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir.

C-fikosiyanın, gıdalarda renklendirici olarak kullanılmasının yanı sıra antioksidan, anti-enflamatuar, antikanser, hipokolesterolemik, nöroprotektif, hepatoprotektif ve radikal süpürücü gibi çeşitli farmakolojik etkilere sahip olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Piñero Estrada ve diğerleri, 2001; Kuddus ve diğerleri, 2015; Li ve diğerleri, 2007; Ismaiel ve diğerleri, 2016; Mathur, 2018; Ismaiel ve Piercey-Normore, 2020).

Fukoksantin diyatomlarda bulunan önemli bir pigmenttir ve özellikle doğada deniz ortamlarında en bol bulunan karotenoidlerden biridir (Peng ve diğerleri, 2011). Yapılan çalışmalar fukoksantin güçlü antioksidan, anti-enflamatuar, antiobesite, antidiyabetik, antikanser ve antihipertansif aktiviteler sergilediğini göstermiştir (Peng ve diğerleri, 2011; Xia ve diğerleri, 2013).

Fas’ta yürütülen *S. platensis* mikroalglerinin fonksiyonel bileşimi, besin özellikleri ve biyolojik aktivitelerinin incelendiği çalışmada, protein miktarı %76, lipit miktarı %2,45 ve toplam fenolik madde miktarı ise 419 mg GAE/100 g olarak bulunmuştur (Seghiri ve diğerleri, 2019).

Farklı işleme yöntemlerinin *S. platensis*’in fitokimyasal bileşikleri ve antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada ise, protein miktarı %55, pH 8,53, lipit %11 ve toplam fenolik madde miktarı ise 120 mg GAE/ g olarak bildirilmiştir (Nouri ve Abbasi, 2018).

P. tricornutum için yapılan çalışmalarda ise toplam fenolik madde miktarının 2-4470 mg GAE/100g arasında değiştiği bildirilmiştir (Banskota, Sperker, Stefanova, McGinn ve O’Leary, 2018; Foo ve diğerleri, 2017; German-Báez, Valdez-Flores, Félix-Medina,

Norzagaray-Valenzuela, Santos-Ballardo, Reyes-Moreno ve Valdez-Ortiz 2017; Goiris ve diğerleri, 2014; Haoujar ve diğerleri, 2019; Tibbetts, Milley ve Lall, 2014). *P. tricornutum*'da fenolik asitler olarak benzoik asit türevleri (protokateşik asit, vanilik asit, gallik asit, siringik asit), hidroksibenzaldehitler (4-hidroksibenzaldehit, 2,5-dihidroksibenzaldehit) ve sinnamik asit türevlerinin (ferulik asit, *p*-kumarik asit, kafeik asit, klorojenik asit ve sinapik asit) bulunduğu bildirilmiştir (Rico ve diğerleri, 2012; Goiris ve diğerleri, 2014; Foo ve diğerleri, 2017; Haoujar ve diğerleri, 2019).

Goiris ve diğerleri (2014)'nin farklı türdeki mikroalglerde bulunan flavonoidlerin tespit edilmesi ile ilgili çalışmasında, *P. tricornutum*'da ferulik asit ve *p*-kumarik asit olmak üzere iki sinnamik asit türevi tespit etmişlerdir. Bir diğer çalışmada ise *P. tricornutum*'da fenolik bileşikler olarak vanilik asit, protokateşik asit, gallik asit, kumarik asit, kafeik asit, siringik asit, ferulik asit, klorojenik asit, kateşin ve epikateşin saptanmıştır (Rico ve diğerleri, 2012).

Yapılan başka bir çalışmada ise *P. tricornutum*'un kafeik asit, 4- hidroksibenzaldehit, sinapik asit, ferulik asit, gallik asit, klorojenik asit, rosmarinik asit ve 2,5- dihidroksibenzaldehit içerdiği belirtilmiştir (Foo ve diğerleri, 2017). Fenolik asitlerin karakterizasyonu, her bir asidin biyolojik aktivitesini anlamak için önemlidir. Örneğin, gallik asit antiinflamatuvar ve antimikrobiyal aktivite gösterirken, kafeik asit ise antifungal etki göstermektedir (Ferrerres ve diğerleri, 2012).

Milovanović, Mišan, Simeunović, Kovač, Jambrec ve Mandić (2015), *S. platensis*'te bulunan uçucu bileşiklerin belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada, hidrokarbonlar (orta uzunlukta alkanlar ve alkenler) ve az miktarlarda, 2-metilizoborneol, 2-pentilfuran, β -siklokitral ve β -iyonon gibi kokulu bileşikleri tanımlamışlardır. β -siklokitral, geosmin ve 2-metilizoborneol gibi çok sayıda uçucu organik bileşiğin litik (plazma zarlarını bozarak hücrelerin ölümüne sebep olan) aktivite gösterdiği ve bu açıdan önemli bir potansiyel olduğu bildirilmiştir (Harada, Ozaki, Tsuzuki, Kato, Hasegawa, Kuroda, Arii ve Tsuji, 2009).

S. platensis'in farklı coğrafi bölgelerde kültüre alınmasının büyüme ve kimyasal kompozisyonu üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, uçucu bileşikler olarak β -iyonon, 6 metil-5- hepten-2-on, epoksi- β iyonon ve 5 metil-2-hekzanon gibi bileşikler tespit edilmiştir (De Jesus, Da Silva Uebel, Costa, Miranda, De Morais, De Morais ve Druzian, 2018). Bu bileşiklerin, doymamış yağ asitleri ve karotenoidlerin bozunması sonucu meydana geldiği ileri sürülmüştür (İşleten Hoşoğlu, 2018). β -iyonon ayrıca önemli bir uçucu koku bileşiği

olarak düşünölmekte ve gıda endüstrisinde aromalandırıcı bileşen olarak kullanılmaktadır (Milovanović ve diğlereri, 2015).

Ege Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada, çeşitli solventler (metanol, diklorometan, petrol eteri, etil asetat) kullanılarak elde edilen *S. platensis*'in ekstraktlarında uçucu bileşenler incelenmiş ve ana bileşenler olarak heptadekan ve tetradekan tespit edilmiştir (Özdemir, Ülkü Karabay, Dalay ve Pazarbaşı, 2004).

P. tricornutum'un iki farklı suşunda (BMD ve CCAP) spesifik metabolitlerin tepe boşluğu-katı faz mikro ekstraksiyon (HS/SPME)–GC-MS yöntemi ile belirlenmesi üzerine yapılan çalışmada tespit edilen uçucu bileşiklerden, 1,8 sineol, α -pinen, limonen ve oktanoik asitin (kaprilik asit) antibiyotik aktivite sergilediğı ayrıca Bohlin suşunun yüksek seviyelerde 6 - ((1E) - butenil) -1,4-sikloheptadien veya ektokarpustan kaynaklanan farklı hoş bir kokuya sahip olduğı belirtilmiştir (Prestegard, Erga, Steinrücken, Mjøs, Knutsen ve Rohloff, 2015).

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. *Spirulina platensis* ve *Phaeodactylum tricornutum* kültürleri

Çalışma kapsamında, mavi-yeşil alg olan *S. platensis* ve diyatom türü olan *P. tricornutum*'un kontrollü laboratuvar koşullarında üretimi Çukurova Üniversitesi Su ürünleri Fakültesi Algal Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. *S. platensis* çok hücreli, filamentli prokaryotik bir mikroalgdır. *S. platensis*'te granüler bir sitoplazma ve gaz vakuolleri bulunmaktadır. Düz ve spiral haldeki iplikçikler silindirik yapıda ve çapları türe göre değişmekle birlikte 1-12 µm arasında değişen hücrelerden oluşmaktadır. *P. tricornutum* ise tatlı su türü olmasına rağmen deniz ortamında da yaşayabilen, hücre merkezinde çoğunlukla kahverengi kromatofor (pigment içeren ve ışığı yansıtan hücre veya hücre grupları) ve çok büyük bir golgi cisimciği bulunan tek hücreli bir ökaryottur. Hücre genişliği 3 µm, uzunluğu ise 8-20 µm arasında değişmektedir. *S. platensis* ve *P. tricornutum*'a ait sistematik sınıflandırma Tablo 3. 1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. *S. platensis* ve *P. tricornutum*'a ait sistematik sınıflandırma

	<i>S. platensis</i>
Üst Alem	Prokaryota
Alem	Eubacteria
Alt Alem	Negibacteria
Şube	Cyanobacteria
Sınıf	Cyanophyceae
Alt Sınıf	Oscillatoriophycidae
Takım	Oscillatoriales
Aile	Microcoleaceae
Cins	Arthrospira
Tür	<i>Arthrospira platensis</i> (Nordstedt) Gomont 1892
Diğer adı	<i>Spirulina platensis</i> (Gomont) Geitler 1925
	<i>P. tricornutum</i>
Üst Alem	Eukaryota
Alem	Chromista T. Cavalier-Smith, 1981
Alt Alem	Chromobiota Cavalier-Smith, 1991
Aşağı Alem	Heterokonta (Cavalier-Smith, 1986) Cavalier-Smith, 1995
Şube	Ochrophyta (Cavalier-Smith, 1986) T. Cavalier-Smith, 1995
Alt Şube	Diatomeae (Dumortier, 1821) Cavalier-Smith, 1995- diatoms
Sınıf	Bacillariophyceae Haeckel, 1878- raphid. pennate diatoms
Alt Sınıf	Bacillariophycidae TM (Haeckel, 1878) Mann, 1990
Takım	Naviculales Bessey, 1907
Alt Takım	Phaeodactylinae J. Lewin, 1958
Aile	Phaeodactylaceae TM Silva, 1962
Cins	<i>Phaeodactylum</i> TM Bohlin, 1897
Tür	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> Bohlin

Çalışmada kullanılan aşı kültürler, *S. platensis* için $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, *P. tricornutum* için ise $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de sabitlenmiş oda sıcaklığında ve $80\ \mu\text{mol photon/m}^2\text{s}$ ışık şiddetinde sürekli aydınlanmanın sağlandığı laboratuvar koşullarında tutulmuş ve uygulanan ışık şiddeti ışık ölçer (Licor, LI-250) ile kontrol edilmiştir. Işık kaynağı olarak floresan (Tekfen, TLD36 watt) lambalar kullanılmış ve raflara yerleştirilen kültürler akvaryum hava motoru (3,5 L/dk, 5 Watt) aracılığı ile sürekli havalandırma sağlanmıştır. Stoklar başlangıçta 250 ml'lik erlenlerde çoğaltılmış ve daha sonra laboratuvar koşullarında 6 litrelik balonların aşılmasında kullanılmıştır. Şekil 3. 1'de denemede kullanılan aşı (inokulum) kültürler verilmiştir.



Şekil 3.1. *P. tricornutum* ve *S. platensis* aşı kültürleri

S. platensis ve *P. tricornutum* kültürlerinin üretiminde sırasıyla *Spirulina* besiyeri (Aiba & Ogawa, 1977) ve Si-Walne besiyeri (Walne, 1970) kullanılmıştır. *P. tricornutum* için deniz suyu, *S. platensis* için ise saf su kullanılmıştır. *Spirulina* kültür ortamı Tablo 3. 2'de, Walne ortamı ise Tablo 3. 3 'te verilmiştir.

3.1.1. *Spirulina platensis* denemelerinin kurulması

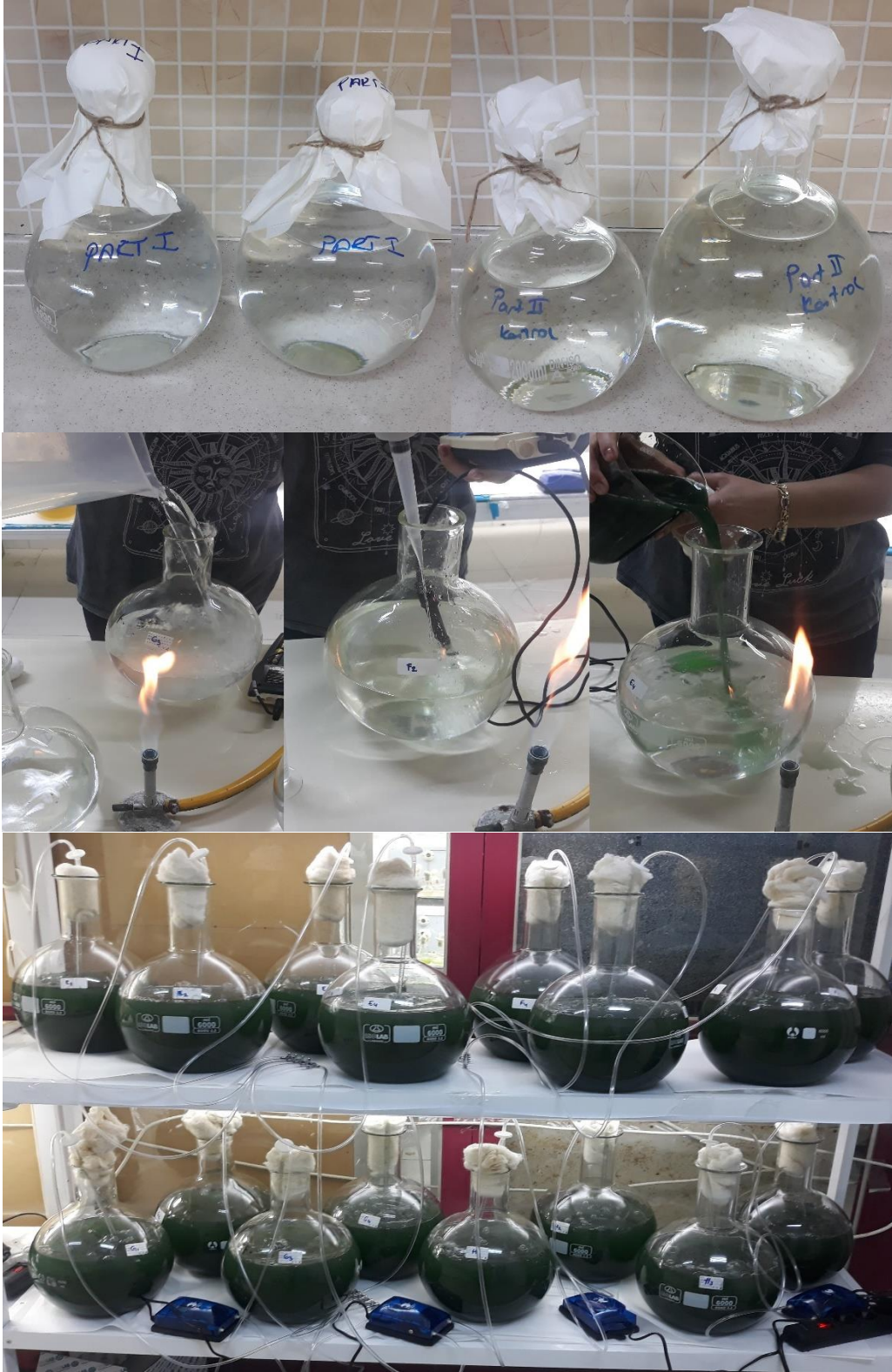
Besi ortamı (medium) mikroorganizmaların büyümeleri, saklanmaları ve transferleri için hazırlanan katı veya sıvı ortamlardır. Mikroorganizmaların kültüre alınmaları (büyütülmeleri) için hazırlanan herhangi bir besi ortamında mikroorganizmanın türüne göre gerekli olan tüm beslenme gereksinimleri bulunmalıdır. Üretim için kullanılan *Spirulina* besi ortamında her bir grup için Part I ve Part II ayrı ayrı hazırlanmıştır. Tablo 3. 2'de hazırlanan kültür ortamları verilmiştir. Kontrol grubu hariç (%20) diğer tuz gruplarında Part II'ye NaCl eklenmemiştir.

Part I, Part II ve belli bir yoğunluktaki tuz çözeltisi (100 g NaCl/ 300 mL) hazırlanmış ve otoklavda 121°C’de 30 dk sterilize edilmiştir.

Tablo 3.2. Spirulina ortamı

Ortam-Solüsyon	Eklenen Madde	Miktar
Part I	NaHCO ₃	18,60 g
	Na ₂ CO ₃	8,06 g
	K ₂ HPO ₄	1,00 g
	Distile su	500,0 mL
Part II	NaNO ₃	5,00 g
	K ₂ SO ₄	2,00 g
	NaCl	2,00 g
	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,40 g
	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,02 g
	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,02 g
	EDTANa ₂	0,16 g
	Mikro Element Solüsyonu	10,00 mL
	Distile su	500,0 mL
Mikro element Solüsyonu	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,001 g
	MnSO ₄ .7H ₂ O	0,002 g
	H ₃ BO ₃	0,01 g
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,001 g
	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,001 g
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,00005 g
	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,70 g
	EDTANa ₂	0,80 g
	Distile su	1,00 L
**Hazırlanmış olan mikroelement solüsyonundan 10 ml alınıp Part II’ye eklenir.		

Spirulina ortamlarının tuzluluğu salinometre (Orion 3 Star) ile ölçüldükten sonra hazırlanan tuz çözeltisi ile %20(kontrol), %25, %30 ve %35 olacak şekilde ayarlanmıştır. Hazırlanan *Spirulina* ortamlarının %20’si aşı olacak şekilde denemeler kurulmuştur. Şekil 3. 2’de *Spirulina* ortamlarının tuz oranlarının ayarlanması ve aşılardan eklenmesi ve 6 litrelik balonlara kurulan denemeler verilmiştir. Balonlara sterilize pipetler yardımıyla akvaryum hava motoru ile havalandırma sağlanmış ve balonların ağzı kontaminasyonu engellemek için steril pamuklar ile kapatılmıştır.



Şekil 3.2. *Spirulina* ortamlarının tuzluluğunun ayarlanması, stok kültürlerin eklenmesi ve denemelerin kurulması

3.1.2. *Phaeodactylum tricornutum* denemelerinin kurulması

Walne kültür ortamının (Tablo 3. 3) hazırlanmasında kullanılan deniz suyu Adana'nın Yumurtalık ilçesinden alınmış olup 0,45 µm göz açıklığında cam elyaf mikrofiber filtre kâğıdından (MFV3 Filterlab, 47 mm) geçirilerek kaba partiküllerden arındırılmıştır. Deniz suyunun tuzluluğu salinometre (Orion 3 Star) ile ölçüldükten sonra %15, %25, %30 (kontrol) ve %35 olacak şekilde ayarlanmıştır. Si-Walne kültür ortamının hazırlanma aşamasında öncelikle deniz suyuna Walne besi ortamına ait besleyici elementler ilave edildikten sonra hazırlanan silikat solüsyonu eklenmiştir. Şekil 3.3'te Walne ortamı hazırlık aşamaları verilmiştir. Deneme kurulmadan önce hazırlanan besi ortamları otoklavda (Hirayama-HV, Japan) sterilize edilmiştir.

Tablo 3.3. *P. tricornutum* için kullanılacak Walne ortamı

Ortam-Solüsyon	Eklenen Madde	Miktar
İz metal çözeltisi (100 ml için) (birkaç damla HCl ile berrak görüntü elde edilir)	CoCl ₂ .6H ₂ O	2,00 g
	ZnCl ₂	2,10 g
	CuSO ₄ .5H ₂ O	2,00 g
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,90 g
Besin Solüsyonu (1 litre için)	FeCl ₃ .6H ₂ O	1,30 g
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,36 g
	H ₃ BO ₃	33,60 g
	EDTANa ₂	45,00 g
	NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	20,00 g
	NaNO ₃	100,00 g
	İz metal çözeltisi	1,00 mL
Silikat solüsyonu (1 litre için)	Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	30,00 g
**1L sterilize deniz suyu 1,021 Atm (15 psi)'de 15 dk otoklavlanır. Hazırlanan çözeltilerden; besin solüsyonu 1 ml olacak şekilde aseptik koşullarda eklenir.		

Sterilize edilen ve tuzlulukları ayarlanan Walne ortamlarına %20'si aşı olacak şekilde *P. tricornutum* stok kültürleri eklenmiştir. Balonlara sterilize pipetler yardımıyla akvaryum hava motoru ile havalandırma sağlanmış ve balonların ağzı kontaminasyonu engellemek için sterilize pamuklar ile kapatılmıştır (Şekil 3. 3).

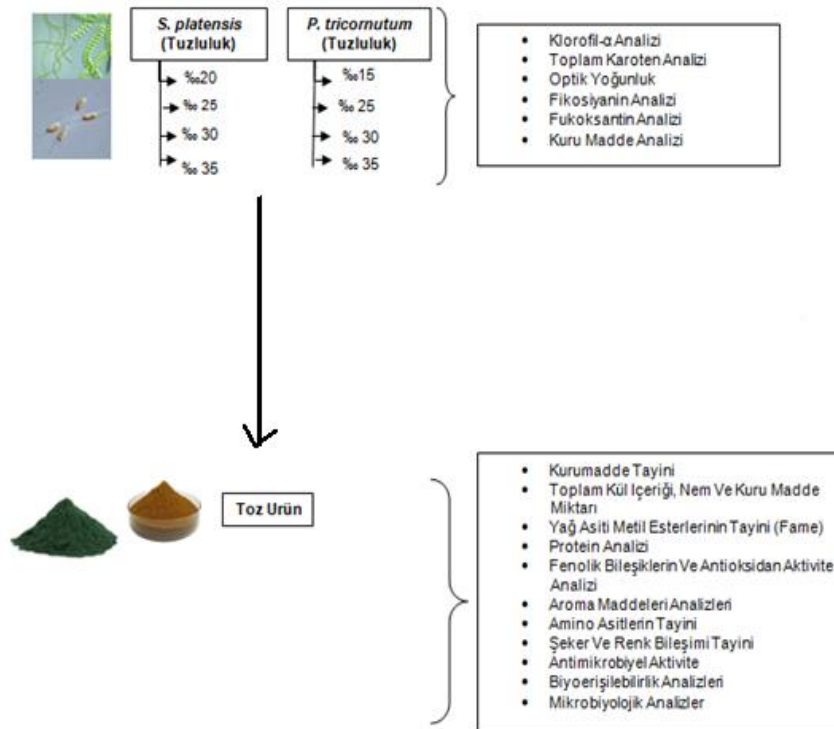


Şekil 3.3. Walne ortamının hazırlanması ve *P. tricornutum* aşı kültürlerinin eklenmesi

Tuz oranları sırasıyla *S. platensis* kültürleri için %20-35 ve *P. tricornutum* için %15-35 olarak ayarlanmıştır. Bu değerler, her iki türün de büyüebildiği minimum ve maksimum tuz oranlarına göre belirlenmiştir. Optimum tuz oranları genellikle *S. platensis* ve *P. tricornutum*

kültürleri için sırasıyla %20 ve %30 olarak kabul edilir ve çalışmada kontrol grupları için bu değerler kullanılmıştır. Her iki tür için dörder kültür grubu hazırlanmıştır. Farklı tuz oranlarına sahip kültür örnekleri için kısaltmalar *S. platensis* kültürleri için S20-C (%20 kontrol), S25 (%25), S30 (%30) ve S35 (%35) ve *P. tricornutum* kültürleri için ise P15 (%15), P25 (%25), P30-C (%30 kontrol) ve P35 (%35), olarak belirlenmiştir.

Farklı tuz oranları kullanılarak yetiştirilen ve dondurularak kurutulan toz ürünler için hazırlanan çalışma planı ve yapılan analizler Şekil 3.4'te verilmiştir. Optik yoğunluk ölçümleri günlük olarak yapılırken, kuru madde, klorofil-*a* ve toplam karotenoid analizleri deneyin başlangıcından itibaren her üç günde bir gerçekleştirilmiştir. En uygun hasat zamanını belirlemek için günlük örneklerdeki optik yoğunluk ölçümlerine dayanarak büyüme eğrileri hesaplanmış ve büyüme durağan faza girdiğinde (*S. platensis* için 30. gün, *P. tricornutum* için 18. gün) hasat gerçekleştirilmiştir. Yaş biyokütle 250 mL'lik rodajlı balonlara konmuş ve laboratuvar ölçekli bir dondurarak kurutucu (Teknosem, TRS 4/4V, İstanbul) ile kurutulmuştur. Dondurarak kurutma sırasında 0,037 mbar vakum basıncı ve -56 °C sıcaklık, kurutucunun kullanım kılavuzuna göre yaklaşık 60 saat boyunca numunenin moleküler ve fiziksel yapısına zarar vermeden uygulanmıştır. Numunenin nihai su içeriği yaklaşık %8 olmuştur (Keskin, Guclu, Sekerli, Soysal, Selli ve Kelebek, 2021).

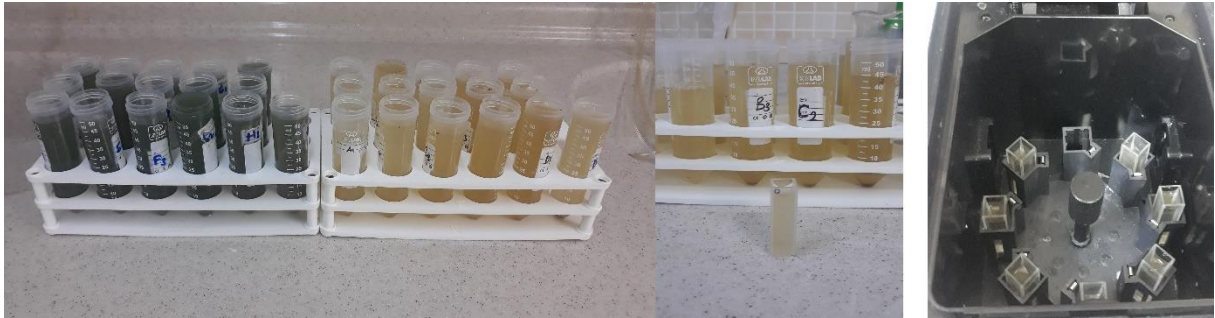


Şekil 3.4. Çalışma planı ve yapılan analizler

3.2. Kùltürlerin Yetiştirilmesi Süresince Yapılan Analizler

3.2.1. Hücre yoğunluğu ölçümü (optik yoğunluk)

Optik yoğunluğu (OD) ölçmek için günlük olarak kùltürler homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra bir pipet yardımıyla 3 mL örnek alınmıştır (Şekil 3. 5). OD analizi 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve alınan örnekler kuartz küvetlere konularak UV-Vis spektrofotometrede (Carry 60; Agilent, Malaysia) 680 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır (Costa, Colla ve Filho 2002).



Şekil 3.5. Optik yoğunluk için alınan örnekler ve spektrofotometrede ölçümü

3.2.2. Kuru madde analizi

Kuru madde (kuru biyokütle) analizi için her 3 günde bir, 10 ml örnek alınmıştır. Biyomas miktarlarının belirlenmesi için 0,45 µm gözenek açıklığına sahip cam fiber filtre kağıtları (GFC), süzme düzeneği ve vakum yardımıyla hücrelerden ayrılarak yoğunlaştırılmıştır. Filtre kağıtlarının darası alındıktan sonra süzme işlemi gerçekleştirilmiş ve yoğunlaştırılmış biyokütle, etüvde 105 °C'de 2 saat boyunca tutulmuş, daha sonra filtre kağıtları desikatöre konularak oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve daha sonra hassas terazide tartılmıştır. Bu şekilde kuru madde miktarı hesaplanmıştır (Boussiba, Fan ve Vonshak, 1992). Kuru madde analizinin aşamaları Şekil 3. 6'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Kuru madde analizi aşamaları

3.2.3. Klorofil-a ve toplam karotenoid analizi

Klorofil-a analizi için 3 günde bir olmak üzere 5 mL’lik örnek alınarak GFC filtre kağıdından geçirilerek süzölmüş ve filtre kâğıdı 15 mL’lik deney tüplerine konmuştur. Üzerine 10 mL %90’lık aseton/su ilavesi yapıp ağızları mantar tıpa ile kapatıldıktan sonra deney tüpleri çalkalanıp buzdolabında (+4 °C) 24 saat karanlıkta bırakılmıştır. Ekstraksiyon süresi sonunda üstteki berrak kısım alınarak UV-Vis spektrofotometrede (Carry 60; Agilent, Malaysia) 630, 645, 665 ve 750 nm’de absorbans değerleri ölçölmüştür. Klorofil-a analiz aşamaları Şekil 3.7’de verilmiştir.



Şekil 3.7. Klorofil-a ve toplam karoten analizi

750 nm’de okunan değerler bulanıklık düzeltme faktörü olarak kullanılmıştır. Bu amaçla 750 nm’de okunan absorbans değerleri diğer dalga boylarında okunan değerlerden çıkartılmış ve klorofil-a konsantrasyonları aşağıdaki eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır (3.1 ve 3.2) (Parsons ve Strickland, 1963).

Toplam karotenoid değerini belirlemek için UV-Vis spektrofotometrede 480 nm’de absorpsiyon değeri ölçülüp ve aşağıdaki eşitlik kullanılarak toplam karoten değeri hesaplanmıştır (3.3) (Parsons ve Strickland, 1963).

$$\text{Klorofil-}a = 11,6 \times A_{665} - 1,31 \times A_{645} - 0,14 \times A_{630} \quad (3.1)$$

$$\mu\text{g/L} = (\text{Klorofil-}a \times v) / (l \times V) \quad (3.2)$$

$$\text{Toplam karotenoid } (\mu\text{g/L}) = A_{480} \times 10 \quad (3.3)$$

V= Filtre edilen su örneği (L)

v= Kullanılan asetonun hacmi (mL)

l= Küvetten geçen ışık yolu (cm)

3.2.4. Fikosiyanin analizi

S. platensis’te bulunan fikosiyanin miktarının nasıl değiştiğini belirlemek için analiz aşısı kültürlerde ve denemenin sonlandırıldığı gün yapılmıştır. Analize başlamadan önce fikosiyanin çıkarımı için 15 gram NaNO_3 1 L distile suda çözündürülerek çözelti hazırlanmıştır. Kültür hasat edilerek biyokütle 55 °C de kurutulmuştur. Analiz için 1 g toz *S. platensis* tartılmış ve cam beher içerisine alınıp üzerlerine 100 mL NaNO_3 çözeltisi eklenmiştir.



Şekil 3.8. Fikosiyanin analizi

2 saat süreyle karıştırıcıda bekletildikten sonra 5’er mL örnek cam tüplere alınarak santrifüjde 3500-5000 rpm (devir/dakika)’de 5 dk tutulmuştur. Şekil 3. 8’de fikosiyanin analizi aşamaları verilmiştir. Örneklerin UV-Vis spektrofotometrede (Carry 60; Agilent, Malaysia) 620 nm dalga boyundaki absorbans değerleri okunmuştur ve aşağıdaki eşitlik (3.4) kullanılarak fikosiyanin miktarı hesaplanmıştır (Boussiba ve Richmond, 1979).

$$\text{C-fikosiyenin miktarı } (\mu\text{g/mL}) = A_{620} \times 137 \quad (3.4)$$

137: *S. platensis* için absorpsiyon katsayısından belirlenen faktör

3.2.5. Fukoksantin analizi

P. tricornutum'da bulunan fukoksantin miktarını belirlemek için Sudhakar, Ananthalakshmi ve Nair, (2013) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. Fukoksantin miktarının nasıl değiştiğini belirlemek için analiz ilk gün ve denemenin sonlandırıldığı gün yapılmıştır. Kültür hasat edilerek biyomas 55 °C de kurutulmuştur. Bir gram toz *P. tricornutum* 15 mL lik tüplere tartılarak üzerine 10 mL %90 etanol (v/v) eklenmiştir. Numuneler gece boyunca 4°C'de buzdolabında inkübe edilmiş ve ardından 8000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Numune renksiz hale gelene kadar ekstraksiyon üç kez tekrarlanmıştır. Numune, ışıkla bozulmayı önlemek için amber renkli tüplerde muhafaza edilmiştir. Fukoksantin miktarı aşağıdaki eşitlik (3.5) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Fukoksantin (mg/g)} = A_{470} - 1,239 (A_{631} + A_{581} - 0,3 \times A_{664}) - 0,0275 \times A_{664} / 141 \quad (3.5)$$

3.3. *Spirulina platensis* ve *Phaeodactylum tricornutum*'un hasat edilmesi

S. platensis ve *P. tricornutum*'un en uygun hasat zamanının belirlenmesi amacıyla günlük alınan örneklerle büyüme eğrileri oluşturulmuştur. Büyüme eğrileri durağan faza geçtiğinde hasat işlemi gerçekleştirilmiştir. *S. platensis*'in hasadı 45µm göz açıklığına sahip plankton bezinden süzülerek, *P. tricornutum*'un hasadı ise santrifüj (Sigma 4-16 KS) kullanılarak 4°C'de 5836xg 5 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir. *S. platensis*'in hasat işlemi Şekil 3.9' da *P. tricornutum*'un ise Şekil 3. 10'da verilmiştir.



Şekil 3.9. *S. platensis* hasat işlemi



Şekil 3.10. *P. tricornutum* hasat işlemi

Elde edilen yaş biyokütleler düşük sıcaklıklarda gerçekleşen, ürünün moleküler ve fiziksel yapısına zarar vermeden dehidrasyonu sağlayan bir kurutma tekniği olan dondurarak kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Yaş biyokütleler 250 mL'lik rodajlı balonlara aktarılmış ve 1 gece -20°C'de dondurulmuştur. Örnekler erimeden liyofilizatör cihazına (Teknosem, TRS 4/4V, İstanbul) bağlanmış ve dondurarak kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kurutulan örnekler cam kavanozlara alınmış ve ışıktan etkilenmemesi için etrafı alüminyum folyo ile sarılarak 4°C'de analiz edilinceye kadar depolanmıştır.

3.4. Hasat Sonrası Yapılan Analizler

3.4.1. Kuru madde ve protein analizi

Numunelerin nem ve kuru madde miktarları AOAC (2007)'ye göre yapılmıştır. Toplam ham protein analizi Kjeldahl yöntemine (AOAC, 1998) göre Kjeldahl cihazında (Gerhardt-Vapodest 45s, Germany) yapılmıştır. Yakma tüplerine yaklaşık 0,5 g civarında numuneler tartılarak üzerine 15 mL derişik sülfürik asit ve katalizör tableti ilave edilmiştir. Sıcaklık 100°C'den başlayıp kademeli olarak 400° C'ye çıkarılarak yakma sağlanmıştır. 2- 2,5 saatlik

yakma süresi sonunda tüpler soğumaya bırakılmış ve daha sonra nötralizasyon ve titrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Titrasyon için harcanan HCl asit miktarı kaydedilerek toplam ham protein miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Azot miktarı} = ((V_1 - V_0) \times N \times 0,014 \times 100) / (\text{Tartılan örnek miktarı, g})$$

V_1 : Örnek için titrasyonda harcanan HCl miktarı (ml)

V_0 : Kör için titrasyonda harcanan HCl miktarı (ml)

0.014: Azotun miliekivalent ağırlığı

% Protein miktarını hesaplamada burada elde edilen sonuç kullanılan örneğin cinsine göre proteine çevirme katsayısı (6,25) ile çarpılmıştır.

3.4.2. Renk analizi

Renk ölçümleri dondurarak kurutulan toz örneklerde gerçekleştirilmiştir. Renk ölçümlerinde Konica Minolta CM-5 (Konica Minolta, INC., JAPAN) cihazı (Şekil 3.11) kullanılarak L^* , a^* , b^* değerleri kaydedilmiştir (López, Sánchez, López, Fernández, Sevilla, Rivas ve Grima, 2006).

L^* : koyuluk(0)/açıklık(100)

a^* : kırmızı(+)/yeşil(-)

b^* : sarı(+)/mavi(-)

c (Chroma) Renk Doygunluğu $= [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$

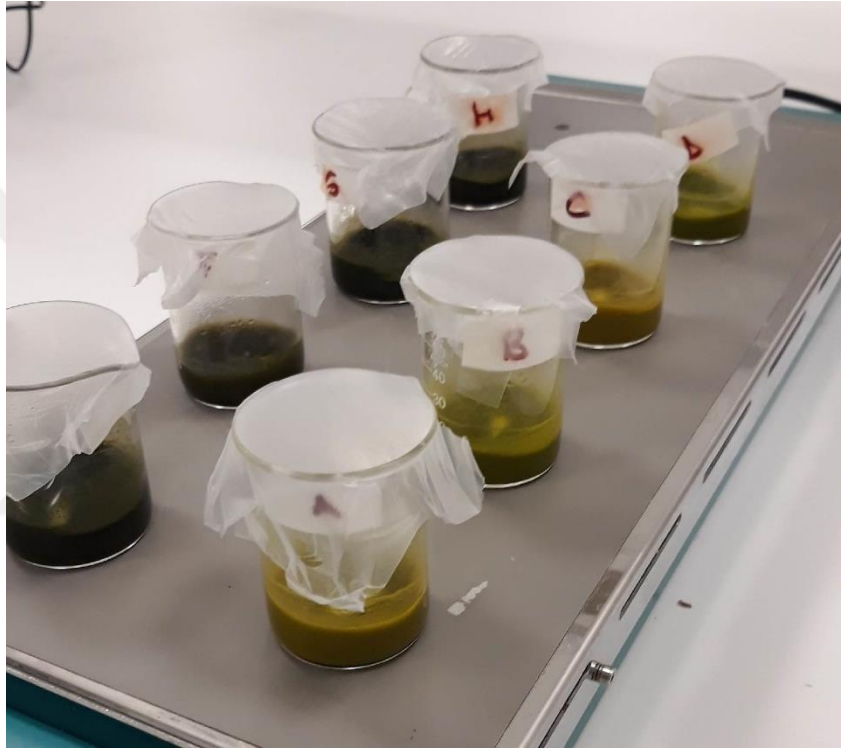
H (Hue) Renk Açısı (Ton açısı) $= (b^*/a^*)$



Şekil 3.11. Konica Minolta CM-5 renk ölçüm cihazı

3.4.3. Antioksidan kapasitenin belirlenmesi

Dondurarak kurutulmuş örneklerden 1 g alınarak 10 mL metanol/su (80/20) ile önce 3,5 saat ultrasonik su banyosunda sıcaklık 25 °C'yi geçmeyecek şekilde bekletilmiş daha sonra manyetik karıştırıcıda 1 gece bekletilerek ekstrakte edilmiştir (Şekil 3.12). Süre sonunda elde edilen ekstraktlar 6500 rpm'de 4°C'de santrifüj (Hettich Universal 320R) edilerek ve üstteki berrak kısım alınıp 0,45 µm'lik PTFE filtrelerden geçirilmiş ve antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde analizlerinde kullanılmıştır.



Şekil 3.12. Antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde analizleri için *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin ekstraksiyonu

Antioksidan kapasite, DPPH, ABTS ve CUPRAC olmak üzere üç farklı yöntemle belirlenmiştir. *DPPH yöntemi*: DPPH (2,2, difenil 1-pikri hidrazil) serbest radikalleri önleme yeteneğini ölçebilen bir reaktiftir ve metanol içerisinde gerçekleşen reaksiyonun zamana karşı değişimi, 515 nm'de UV-Vis (BMG LABTECH, SPECTROstar Nano, Ortenberg, Germany) spektrofotometre kullanılarak belirlenen ölçüm sonuçlarına göre yapılmıştır. Bu kapsamda DPPH reaktifi (320,236 mg) metanol/ su (100 mL) karıştırılmış ve spektrofotometrede absorbansı $0,70 \pm 0,01$ 'e ayarlanmıştır. Daha sonra 0,1 mL örnek/standart üzerine 3,9 mL

reaktif eklenmiş ve karanlıkta 30 dk bekletildikten sonra 515 nm’de ölçüm yapılmıştır (Brand-Williams, Cuvelier ve Berset, 1995).

ABTS yöntemi: Saafi, El Arem, Issaoui, Hammami ve Achour (2009)’nın metoduna göre yapılmıştır. Bu kapsamda ABTS (2,2’-Azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic asit) reaktifi (2,36 mg) ve potasyum peroksidisülfat (67,5 mg) metanol/su (80/20) ile karıştırılarak karanlık ortamda 12-16 saat bekletilmiştir. Daha sonra 100 µL örnek/ standart üzerine 3,9 mL hazırlanan ABTS reaktifi eklenmiş ve 15 dakika sonra UV-Vis spektrofotometrede (BMG LABTECH, SPECTROstar Nano, Ortenberg, Germany) 734 nm dalga boyundaki absorbans ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri Trolox (mM trolox/100 g KA) kalibrasyon eğrisi ile hesaplanmış ve sonuçlar mM trolox / 100g cinsinden ifade edilmiştir.

CUPRAC yöntemi: Apak, Güçlü, Özyürek ve Karademir (2004)’nin metoduna göre yapılmıştır. Bu yöntem için $1,0 \times 10^{-2}$ M nakır (II) klorür çözeltisi ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 1 M amonyum asetat tamponu (pH 7) ve $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) çözeltisi hazırlanmıştır. Troloks (TR) antioksidan bileşiğinin stok çözeltisi ise $1,0 \times 10^{-3}$ M konsantrasyonda olacak şekilde hazırlanmıştır. Bir deney tüpü içerisine bakır (II), neokuproin çözeltisi ve amonyum asetat tamponundan sırasıyla 1 mL eklenmiştir. Örneğin katı veya sıvı olma durumuna (x) göre (katı ise 0,5 mL, sıvı ise 0,3 mL) üzerine antioksidan çözeltisi ve (1.1-x) mL distile su ilave edilip tüpler iyice çalkalanmıştır. Toplam hacim 4.1 mL olacak şekilde hazırlanan çözeltiler oda koşullarında ağzı kapalı olarak 30 dakika boyunca bekletilmiş ve süre sonunda içinde örnek bulunmayan referans çözeltiliye karşı 450 nm’de absorbans değerleri ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri Trolox ($1,22 \times 10^{-5}$ - $2,44 \times 10^{-5}$ - $3,66 \times 10^{-5}$ - $4,88 \times 10^{-5}$ - $6,10 \times 10^{-5}$) kalibrasyon eğrisi ile hesaplanarak sonuçlar mM trolox/100 g KA cinsinden ifade edilmiştir.

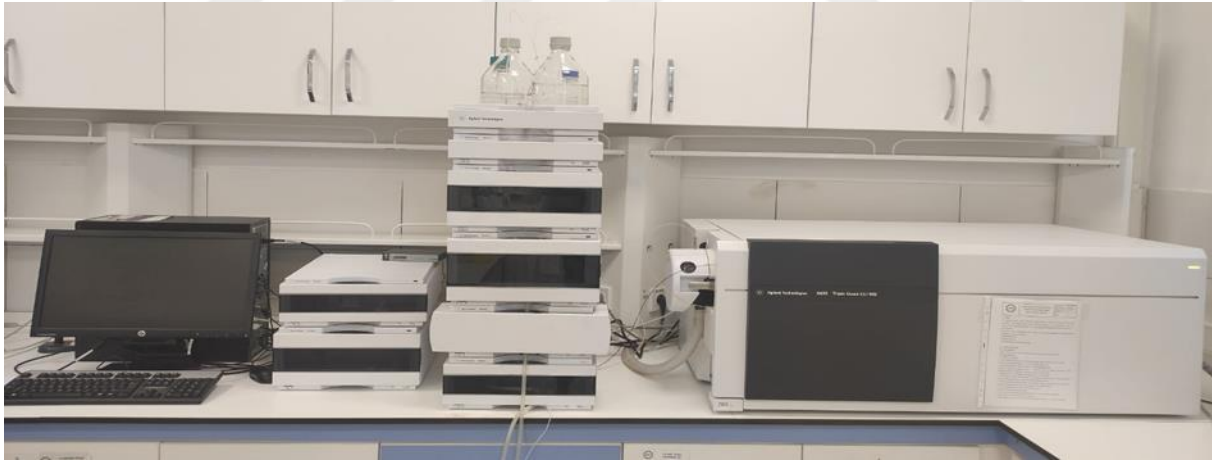
3.4.4. Toplam fenolik madde analizi

Analizin temel prensibi bazik ortamda Folin-ciocalteu reaktifinin indirgenerek fenolik bileşiklerin oksitlendirilmesine dayanmaktadır. Spektrofotometre küvetine 200 µl ekstrakt/standart çözelti eklenmiş ve üzerine 1,5 ml Folin-Ciocalteu reaktifi (1:10) eklenerek beş dakika bekletilmiştir. Bekleme süresinden sonra tüplere 1,5 ml %6’lık sodyum karbonat çözeltisi eklenerek 90 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta tutulmuştur. Artan fenolik içeriği ile mavi renkli solüsyon da daha koyulaşmaktadır. Absorbans farklılıkları UV-Vis Spektrofotometrede (BMG LABTECH, SPECTROstar Nano, Ortenberg, Germany) 765

nm'de ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi için 500 ppm'lik gallik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Fenolik içerik, kalibrasyon eğrisinden elde edilen eğime bağlı olarak hesaplanmıştır (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015).

3.4.5. Fenolik bileşiklerin LC-ESI-MS/MS ile analizi

S. platensis ve *P. tricornutum* fenoliklerin ekstraksiyonları Kim, Kang, Kwon, Chung ve Pan, (2013)'nin uyguladığı yöntemde çeşitli modifikasyonlar yapılarak uygulanmıştır. Çalışmada dondurarak kurutulmuş örneklerden 1 g alınarak 10 mL metanol/su (80/20) ile önce 3,5 saat ultrasonik su banyosunda sıcaklık 25 °C'yi geçmeyecek şekilde bekletilmiş daha sonra manyetik karıştırıcıda 1 gece bekletilerek ekstrakte edilmiştir. Süre sonunda elde edilen ekstraktlar 6500 rpm'de 4°C'de santrifüj (Hettich Universal 320R) edilerek ve üstteki berrak kısım alınıp 0,45 µm'lik filtrelerden geçirilmiş ve LC-MS/MS cihazına enjeksiyon yapılmıştır. Çalışmada, Agilent 6430 triple quadrupole kütle spektroskopisi yüksek performanslı sıvı kromatografisi (LC-DAD-ESI-MS/MS) kullanılmıştır (Şekil 3.13). LC-DAD-ESI-MS/MS analizleri ise Kelebek ve Selli (2011) ve Kelebek, Jourdes, Selli ve Teissedre (2013)'nin yöntemlerine göre 3'er tekrarlı olarak yapılmıştır.



Şekil 3.13. Fenolik bileşiklerin tanımlanmasında kullanılan LC-DAD-ESI-MS/MS

Fenolik bileşiklerin analizinde Windows NT 4.0 tabanlı ChemStation yazılımı tarafından kontrol edilen bir HPLC sistemi (Agilent Technologies, model 1100) kullanılmıştır. HPLC sistemi bir otomatik örnekleyici (G1367 E, 1260 HIP ALS), bir ikili pompa (G1312 B, 1260 Bin pompa), bir gaz giderici (G1322 A, 1260 Degasser) ve bir diyot array dedektörü (G1351D 1260 DAD VL) içermektedir. Analizlerde kullanılan HPLC koşulları ve elüsyon sistemi aşağıdaki gibidir:

Kolon: Phenomenex Luna reversed-phase C-18 kolon (4,6 mm×250 mm, 5 µm)

Enjeksiyon miktarı: 15 µL

Taşıyıcı faz: A=Su/formik asit (99:1, h/h), B= Asetonitril/ Formik asit (99/1, h/h)

Akış hızı: 0,6 mL/dak Dalga boyu: 280, 320 ve 360 nm

Dedektör tipi: Diyot array dedektör (G1351D 1260 DAD VL)



Kullanılan elüsyon sistemi şu şekildedir:

Süre (Dakika)	% A	% B
0	100	0
10	100	0
40	95	5
58	85	15
80	75	25
103	50	50
107	0	100
116	0	100
120	100	0

Fenolik bileşiklere ait piklerin saflığı, örnek için elde edilen spektrum ile standart maddenin spektrumunun karşılaştırılmasıyla saptanmıştır. Çalışmada kullanılan kütle spektroskopisinin çalışma koşulları aşağıdaki gibidir:

Kapiller sıcaklık: 400 °C

Kapiller voltaj: -3V

Nebulizer gaz akışı: 1,75 L /dakika

Çözünme gaz akışı: 1 L/dakika

Sprey voltaj: 5 kV

Çalışmada 100-1500 amu kütle aralığında tarama yapılmıştır. Fenolik bileşiklerin miktarının hesaplanması için her bir standart maddeden beş farklı konsantrasyonda çözelti hazırlanmış ve HPLC'ye enjekte edilerek her bir bileşik için kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bu eğrilerden miktarları hesaplanmıştır.

3.4.6. Organik asitlerin ve şekerlerin HPLC-PDA-RID ile analizi

S. platensis ve *P. tricornutum* toz örneklerinde organik asitlerin analizleri için, 1 g örnek alınarak 10 mL metanol/su (80/20) ile önce 3,5 saat ultrasonik su banyosunda sıcaklık 25 °C'yi geçmeyecek şekilde bekletilmiş daha sonra manyetik karıştırıcıda 1 gece bekletilerek ekstrakte edilmiştir. Süre sonunda elde edilen ekstraktlar 6500 rpm'de 4°C'de santrifüj (Hettich Universal 320R) edilerek ve üstteki berrak kısım alınıp 0,45 µm'lik filtrelerden geçirilmiştir. Ekstraktlar, çalışmadaki organik asit ve şeker profillerini tespit etmek ve ölçmek için PDA ve RID dedektörlü HPLC'ye (Shimadzu Prominence-i LC-2030C) enjekte edilmiştir. Organik asitler için taşıyıcı faz olarak formik asit çözeltisi (%0,1) kullanılırken, şeker profili için 0,5 mL/dak akış hızında H₂SO₄ (5 mM) ve BIORAD Aminex HPX-87H

kolonu (300 × 7,8 mm) kullanılmıştır. Bileşiklerin miktarlarını belirlemek için her bir standart madde için beş farklı konsantrasyonda çözeltiler hazırlandı ve organik asit ve şeker miktarları kalibrasyon eğrilerinden hesaplanmıştır.

3.4.7. Amino asitlerin HPLC-PDA ile analizi

Amino asit profili, Zeng, Ou, Huang, Li, Xu, Liu ve Yang (2015) açıklanan yönteme göre küçük değişikliklerle belirlenmiştir. Kurutulmuş 0,5 g numune 10 mL 0,1 N HCL ile 110 °C’de 24 saat boyunca geri akış altında hidrolize edilmiştir. Daha sonra sıvıdan 2 ml çekilmiş ve 0,45 µm filtreden geçirilmiştir. Analizlerde Shimadzu HPLC cihazı (Prominence-i LC-2030C model) kullanılmıştır. 3-MPA, OPA ve FMOAC ile elde edilen örnekler Agilent Eclipse Plus C18 kolona (3,5 µm, 4,6 × 100 mm) enjekte edilmiştir. Mobil faz olarak 20 mM potasyum fosfat tamponu (45/40/15: asetonitril/metanol/su) (pH 6,9) kullanılmıştır. Amino asitler standartların alıkonma sürelerine göre tespit edilmiş ve hesaplamalar prolin için 262 nm’deki ve diğer amino asitler için 338 nm’deki pik alanlarına göre yapılmıştır.

3.4.8. Uçucu bileşiklerin analizleri

3.4.8.1. Uçucu bileşiklerin ekstraksiyonu

Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) analizi için *S. platensis* ve *P. tricornutum* biyokütlelerinde aroma maddeleri, tepe boşluğu katı faz mikro ekstraksiyon (HS-SPME) yöntemi ile ekstrakte edilmiştir. Analizler öncesi SPME fiberi GC-MS’de 200°C’de temizlik için örneksiz olarak 30 dakika çalıştırılmıştır. Bu işlem sonrasında, toz örneklerden 0,5 g 20 mL’lik SPME vialine alınmış ve 1 µL iç standart (4-nonanol) eklenmiştir. Ultrasonik su banyosunda 10 dk bekletildikten sonra PDMS/CAR/DVB (Sigma-Aldrich) fiberi kullanılarak, örnekler 60°C’de 10 dakikalık karıştırma işlemi uygulanmış ve aroma maddeleri fibere adsorbe edilmiştir. Fiber daha sonra GC-MS’de 250°C’de 5 dakikalık desorpsiyon işlemine tabi tutulmuştur (Selli, Canbas, Varlet, Kelebek, Prost ve Serot, 2008).

3.4.8.2. Uçucu bileşiklerin GC-FID ve GC-MS ile analizleri

Aroma maddelerinin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi “Agilent 6890N” marka gaz kromatografisi ve buna bağlı “Agilent 5975B VL MSD” kütle spektrometresinde (MSD) eş zamanlı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu sistemde kolon çıkışı özel bir ayırıcı (Dean switch-Agilent) yardımıyla eşit olarak ikiye ayrılmıştır; birinci kısım FID’ye, ikinci kısım MSD’ye

gitmektedir. Böylece aynı zamanda yapılan miktar tayini ve tanımlama işlemiyle analizin hassasiyeti arttırılmıştır (Selli ve diğerleri, 2008). Aroma maddelerinin miktar tayininde, “Agilent 7890A” marka alev iyonlaşma dedektörlü (FID) gaz kromatografisi kullanılmıştır. Aroma maddelerinin ayrımı DB-WAX kapiler kolon (60 m x 0,25 mm x 0,4 µm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Taşıyıcı gaz olarak kullanılan He (Helyum) akış hızı 1,5 mL/dakika olarak ayarlanmıştır. Dedektör ve enjektör sıcaklıkları 250°C’dir. Aroma maddelerinin tanımlanmasında gaz kromatografisine bağlı “Agilent 5975B VL MSD” marka kütle spektrometresi kullanılmıştır. Enjektör tipi ve sıcaklık programı gaz kromatografisi ile aynı koşulları taşımaktadır. Piklerin tanımlanması, standardı bulunan bileşikler için standart çözelti enjekte edilerek yapılmış, standardı olmayan bileşikler için ise kütle spektrumunun bilgisayar hafızasındaki aroma maddeleri kütüphanelerindeki (Wiley 7.0 NIST0.5, NIST-11, ve Flavor.2L) kütle spektrumlarıyla karşılaştırılması yoluyla yapılmıştır. Piklerin tanımlanmasından sonra aroma maddelerinin konsantrasyonları iç standart yöntemiyle hesaplanmıştır (Selli ve diğerleri, 2008). Hesaplama her bir bileşiğin cevap faktörü dikkate alınmıştır. Fırın sıcaklık programı şu şekildedir:

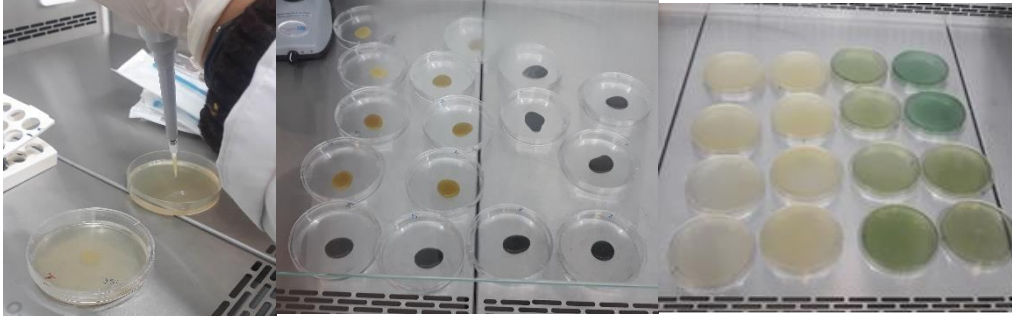
°C/dakika	°C	Bekleme süresi (dakika)
	60	1
10	175	10
5	210	5
5	230	15

3.5. Mikrobiyolojik analizler

S. platensis ve *P. tricornutum* ekstraktlarının dondurularak kurutulan numunelerinde mikrobiyolojik analizler için aseptik koşullar altında örnekler alınmış ve toplam aerobik mezofilik bakteri ve maya/küf sayımı gerçekleştirilmiştir. Şekil 3. 14’te toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) ve maya- küf sayılarının belirlenme aşamaları verilmiştir.

Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayılarının belirlenmesi: Örneklerde TAMB sayımı dökme plaka yöntemiyle Plate Count Agar’a (PCA) ekim yapılarak belirlenmiştir. 30°C’ de 48-72 saat inkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılmıştır (Harrigan, 1998; Halkman, 2005).

Maya-Küf sayımı: Örneklerde maya küf sayımı yayma plaka sayım yöntemi ile Yeast extract Glucose Chloramphenical Agara (YGCA) ekim yapılarak belirlenmiştir. 30 °C’de 3-5 gün inkübasyon sonunda gelişen koloniler sayılmıştır (Halkman, 2005).



Şekil 3.14. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) ve maya- küf sayılarının belirlenmesi

3.6. İn Vitro Sindirim Sistemi Metodu ile Biyoaktif Bileşiklerinin Biyoerişilebilirliklerinin Tespiti

S. platensis ve *P. tricornutum* ekstraktlarında fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliklerinin saptanması amacıyla Brodtkorb, Egger, Alminger, Alvito, Assunção, Ballance, Bohn, Bourlieu-Lacanal, Boutrou ve Carrière, (2019)’ nin uyguladığı *in vitro* sindirim yöntemi kullanılmıştır. Bu metotta öncelikle örneklerin ağızdaki sonrasında mide ve ince bağırsaktaki sindirimi taklit edilmiştir. Analiz sırasında ağız, mide ve bağırsak basamaklarından toplanan örnekler toplam fenolik madde içeriği, antioksidan kapasite (DPPH, ABTS, CUPRAC) analizi yapılmış ve analizler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.7. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler

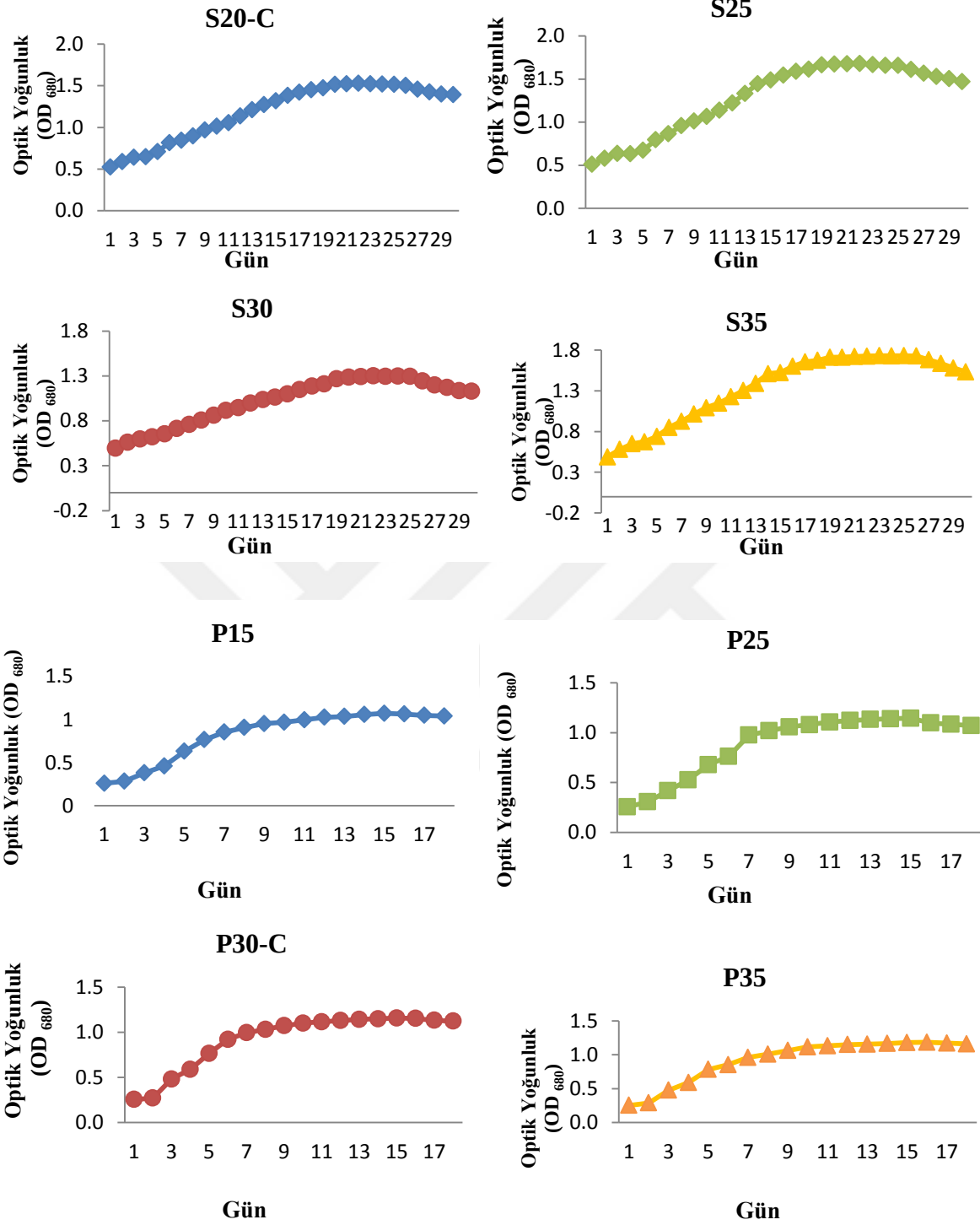
Çalışmada elde edilen sonuçlar uluslararası literatür ile karşılaştırılmış ve SPSS istatistik programı (Versiyon:22, SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak tek yönlü ANOVA analizine tabi tutulmuştur. Ortalamalar arasındaki farklar Duncan karşılaştırma testleri kullanılarak karşılaştırılmıştır. Denemelerde uygulanan tuz oranları ile önemli kalite parametreleri, protein, amino asitler, organik asitler ve aroma bileşikleri arasındaki çoklu ikili karşılaştırmaları değerlendirmek için XLSTAT 2019 yazılımında (sürüm 2108) korelasyon matrisi (Pearson korelasyon katsayıları, r) ve korelasyon haritaları hazırlanmış ve incelenmiştir. Antioksidan aktivite ve fenolik bileşikler arasında çoklu ikili karşılaştırmaları değerlendirmek için OriginLab Pro 2021 (OriginLab Corporation) yazılımında korelasyon matrisi grafiği hazırlanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Deneme Süresince Yapılan Analizlerin Sonuçları

4.1.1. Hücre Yoğunluğu ölçümü (optik yoğunluk) sonuçları

S. platensis ve *P. tricornutum*'un günlük hücre yoğunluğu (OD_{680}) değişimleri Şekil 4.1'de verilmiştir. *S. platensis* denemeleri 30 gün boyunca devam etmiş ve denemenin son gününde hücre yoğunluğunu gösteren OD_{680} değerleri S20-C, S25, S30 ve S35 için sırasıyla 1,53, 1,47, 1,13 ve 1,39 olarak belirlenmiştir ($p<0,05$). En yüksek hücre yoğunluğu S20-C numunesinde (1,53) ve en düşük hücre yoğunluğu S30 numunesinde (1,13) tespit edilmiştir (Tablo 4. 1). Farklı tuz oranlarında yetiştirilen *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin hücre yoğunluğu değerleri, kuru madde, klorofil a ve toplam karoten miktarları da Tablo 4. 1'de verilmiştir. *P. tricornutum* 'un denemesi ise 18 gün boyunca devam etmiş ve son gündeki hücre yoğunluğu (OD_{680}) P15, P25, P30-C ve P35 için sırasıyla 1,04, 1,07, 1,16 ve 1,12 olarak belirlenmiştir. Çalışmada, çalışma gruplarının son gün ölçülen hücre yoğunluğu (OD_{680}) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p<0,05$). En yüksek hücre yoğunluğu P30-C örneğinde, en düşük ise P15 örneğinde bulunmuştur (Tablo 4. 1). Liang ve diğerleri (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, tuzluluğun *P. tricornutum* türlerinin büyük ölçekli yığın kültürleri üzerindeki etkisi %20 ve %35 tuzlulukta incelenmiş ve %20 oranının büyüme hızı ve biyokütle dağılımı açısından daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir. *S. platensis* ve *P. tricornutum*'un tuz oranı, OD_{680} ve kuru madde değerleri arasında sırasıyla pozitif, güçlü ve orta düzeyde korelasyonlar ($r = 0,99$ ve $r = 0,53$) gözlenmiştir (Şekil 4.5). Tuz oranlarındaki değişikliklerin her iki türün gelişimi üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Alglerin büyümesi, metabolizması ve canlılığı için önemli bir ekolojik faktör olan tuzun, hücrelerin değiştirilmiş ortama uyum sağlamasını zorlaştırdığı ve büyüme hızında düşüşe neden olduğu gözlenmiştir. Bu durumun iyonik dengesizlik, ozmotik stres ve fotosentetik aktivitenin zarar görmesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Liang ve diğerleri, 2006 Uzlasir, Isik, Hizarci Uslu, Selli, Kelebek, 2023a).

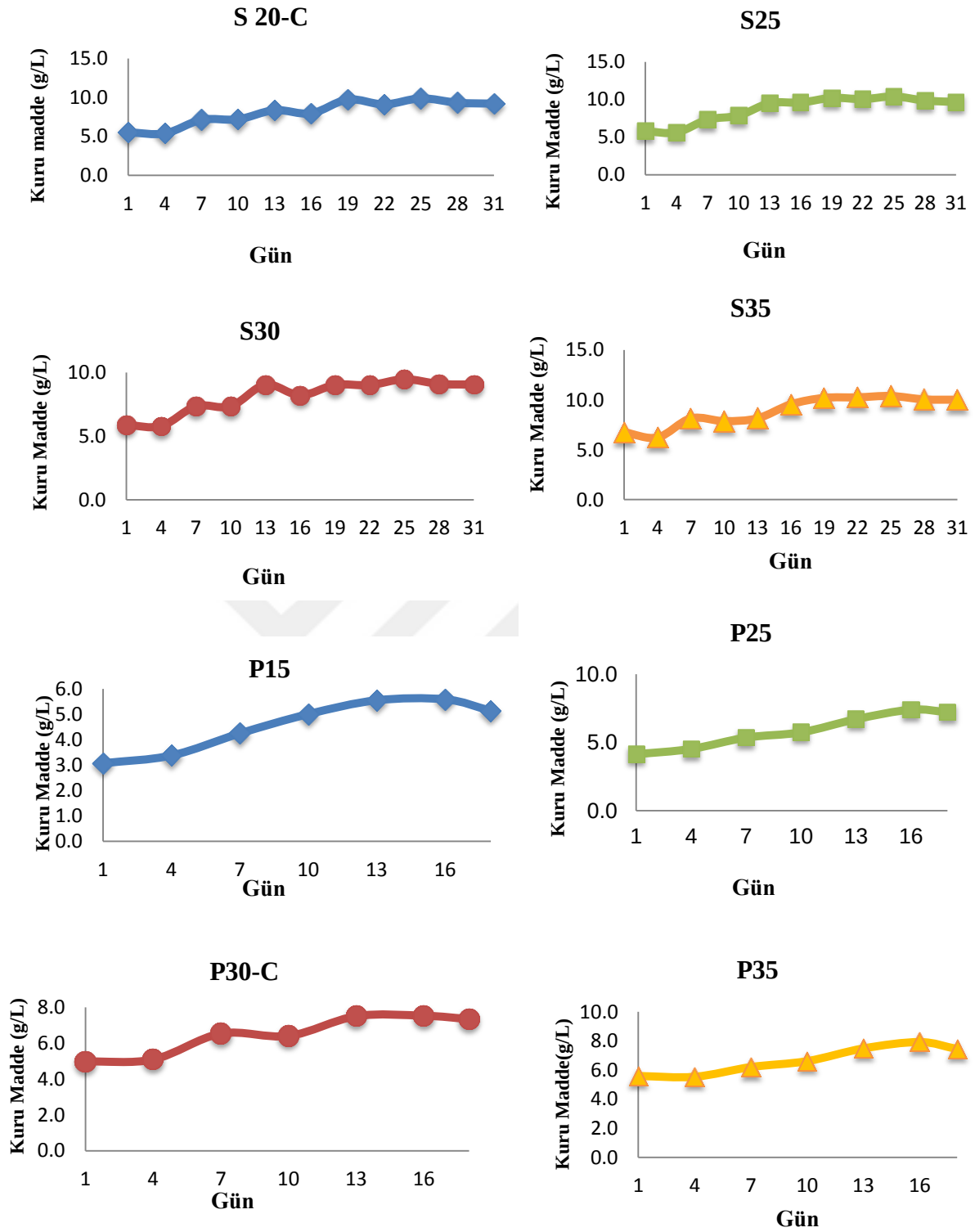


Şekil 4.1. Deney süresince farklı tuz oranlarında yetiştirilen *S. platensis* ve *P. tricornutum* kültürlerinin optik yoğunluk (hücre yoğunluğu) değişimleri

4.1.2. Kuru madde (kuru biyomas) analizi sonuçları

Kuru madde analizleri her üç günde bir yapılmış ve deney süresince meydana gelen değişimler Şekil 4.2 ve Tablo 4.1'de verilmiştir. Çalışmada *S. platensis* için ölçülen kuru

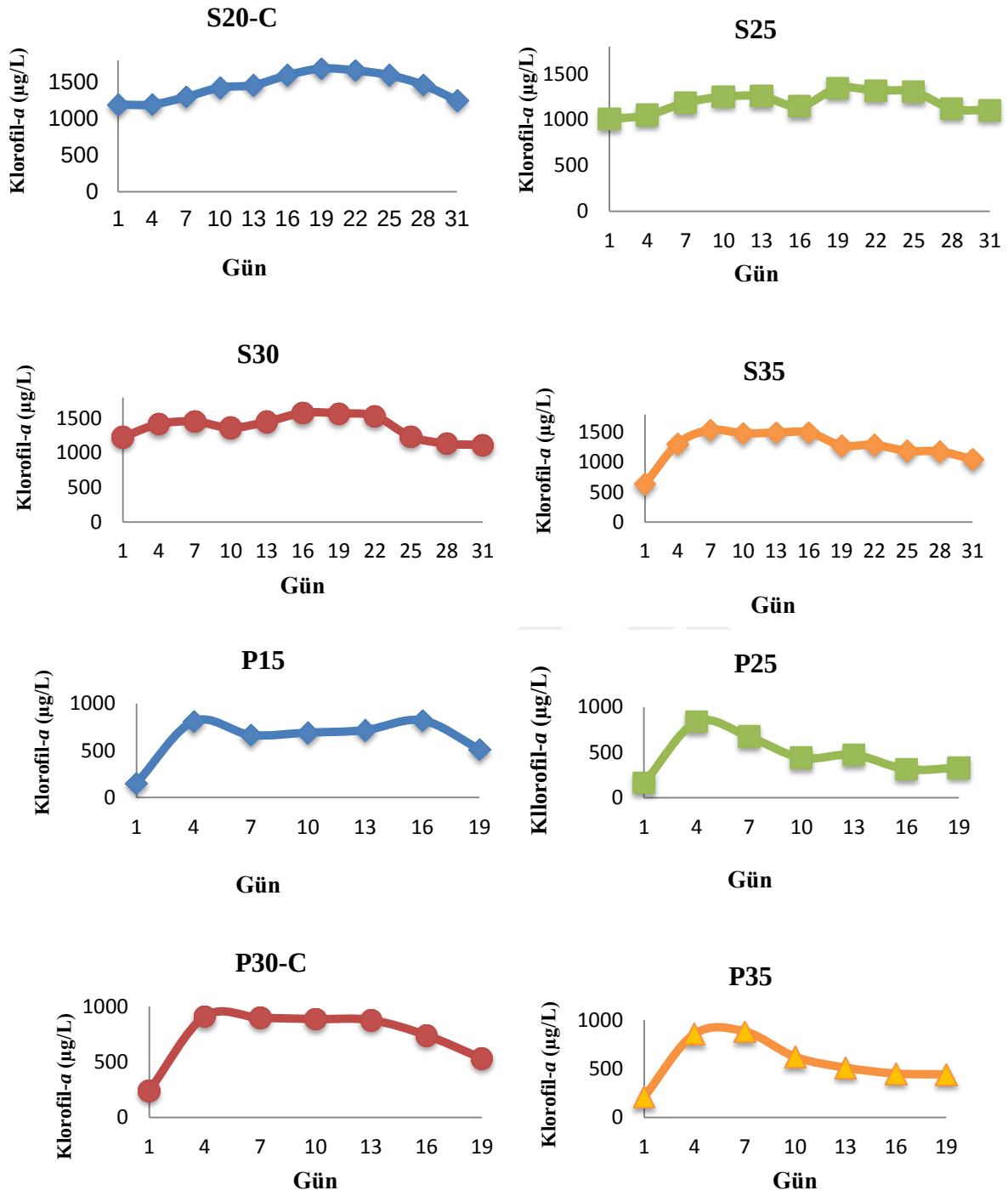
madde miktarları S20-C için 6,75 g/L, S25 için 5,77 g/L, S30 için 5,87 g/L ve S35 kodlu örnek için ise 6,52 g/L olarak belirlenmiştir. Kuru madde miktarı deneme süresince artmış ve son gündeki miktarları sırasıyla S20-C için 10,01 g/L, S25 için 9,66 g/L, S30 için 9,05 g/L ve S35 kodlu örnek için 9,20 g/L olmuştur (Tablo 4.1). Genel olarak değerlendirildiğinde, tuz oranının kuru madde miktarı üzerinde olumsuz yönde bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, farklı tuz konsantrasyonlarının *Dunaliella salina* ve *Chlorella vulgaris* kültürü üzerindeki etkisi üzerine yapılan bir çalışmada (Shalaby, Shanab ve Singh, 2010), yüksek tuz konsantrasyonunun hücre ölümlerini arttırdığı buna bağlı olarak ise kuru madde miktarının azaldığı belirlenmiştir (Uzlasir ve diğerleri, 2023a). Çalışmanın başında, *P. tricornutum*'un kuru madde içerikleri P15 için 4,98 g/L, P25 için 4,13 g/L, P30-C için 5,59 g/L ve P35 kodlu örnek için ise 3,08 g/L olarak belirlenmiştir. Deneyin son gününde, P30-C örneği en yüksek kuru madde içeriğine (9,43 g/L) sahipken, P35 örneği en düşük içeriğe (5,83 g/L) sahip olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla, artan tuz konsantrasyonu kuru madde içeriğinde bir düşüşe neden olmuştur (Tablo 4.1). Alglerde kuru madde miktarı üzerine tuzluluğun etkisi ile ilgili çalışma mevcut olmadığından karşılaştırma için tuz faktörünün çeşitli bitkilerdeki kuru madde miktarı üzerine etkisi üzerine gerçekleştirilen bilimsel çalışmalar incelenmiştir ve yapılan çalışmada kuru madde miktarının tuz faktörünün etkisiyle azaldığı bilgisi sunulmuştur (Amirul Alam, Juraimi, Rafii, Hamid, Aslani ve Alam, 2015).



Şekil 4.2. Deney süresince farklı tuz oranlarında (%15-35) yetiştirilen *S. platensis* ve *P. tricornutum* kültürlerinin kuru madde miktarındaki (g/L) değişimler

4.1.3. Klorofil-a ve toplam karotenoid analizi sonuçları

Fotosentetik organizmalar, yapılarında bulunan organik pigmentler sayesinde ışık enerjisini kullanabilmektedirler. Algler, klorofiller, karotenoidler ve fikobilinler olmak üzere üç ana pigment sınıfını yapısında bulundurmaktadır. Alglerde bulunan başlıca fotosentetik pigment klorofil-*a*'dır. Klorofil-*a* ve toplam karotenoid analizleri, denemenin başladığı günden itibaren 3 günde bir olmak üzere yapılmıştır ($p>0,05$). *S. platensis* için denemenin başlangıcında klorofil-*a* miktarı S20-C için 1194,2 µg/L, S25 grubu için 1008,1 µg/L, S30 grubu için 1227,6 µg/L ve S35 grubu için 634,4 µg/L olarak belirlenmiştir. Klorofil-*a* değerlerinde deneme boyunca artış gözlenmiş olup, en yüksek klorofil-*a* miktarı S20-C, S25 ve S30 örneği için 19. günde S35 grubu için ise 16. günde belirlenmiştir. S20-C, S25, S30 ve S35 örneklerinde klorofil-*a* miktarları sırasıyla 1689,2, 1346,7, 1569,6 ve 1282,3 µg/L olarak saptanmıştır. Son gün gözlenen klorofil-*a* miktarları S20-C, S25, S30 ve S35 kültürleri için sırasıyla 1253, 1104, 1112 ve 1050 g/L olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1) Klorofil-*a* içerikleri ile ilgili olarak, farklı tuz oranlarına göre *P. tricornutum* kültürlerinde denemelerin son gününde ölçülen değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir ($p>0,05$). En yüksek klorofil- α miktarı P30-C örneğinde (530,18 g/L) gözlenirken, en düşük değer P25 (329,03 g/L) örneğinde gözlenmiştir. *S. platensis*'in karakteristik yeşil renginin kaynağının klorofil pigmentinin varlığından kaynaklanmaktadır. *S. platensis*'in klorofil-*a* miktarının *P. tricornutum*'dan yüksek olduğu belirlenmiştir. Literatürde *S. platensis* ve *P. tricornutum* kültürlerinde tuz stresine bağlı olarak klorofil-*a* miktarındaki değişimler üzerine sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Shalaby ve diğerleri (2010), mikroalg yetiştiriciliğinde uygulanan tuz stresinin klorofil ve ayrıca bazı ksantofillerde (neoksantin ve violaksantin) azalmaya neden olduğunu belirtmiştir. Mevcut çalışmanın bulguları, klorofil- α miktarının daha yüksek tuz oranı ile azalması bakımından benzerlik göstermektedir. Klorofil ve biyokütledeki bu azalma fotosentez mekanizmasının engellenmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Uzlasir ve diğerleri, 2023a). Önceki çalışmalarda, klorofil-*a* miktarı *P. tricornutum*'da 0,37 ila 3,03 mg/g arasında belirlenirken (Reboloso-Fuentes, Navarro-Perez, Ramos-Miras ve Guil-Guerrero, 2000; Wu ve diğerleri, 2016), *S. platensis* kültürlerinde daha yüksek (0,65-25,0 mg/g) bulunmuştur (Gabr, El-Sayed ve Hikal, 2020; Ismaiel ve diğerleri, 2016).



Şekil 4.3. Deney süresince farklı tuz oranlarında (15-35%) yetiştirilen *S. platensis* ve *P. tricornutum* kültürlerinin klorofil-*a* miktarındaki (µg/L) değişimler

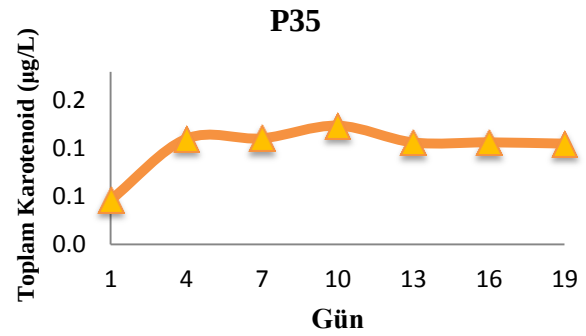
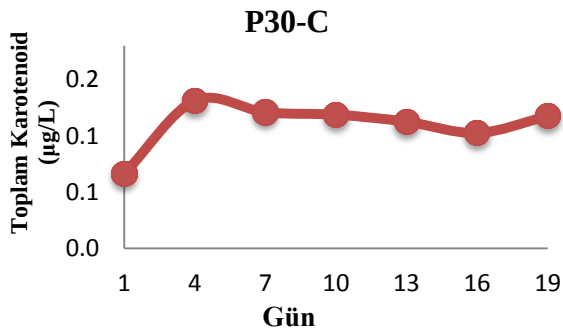
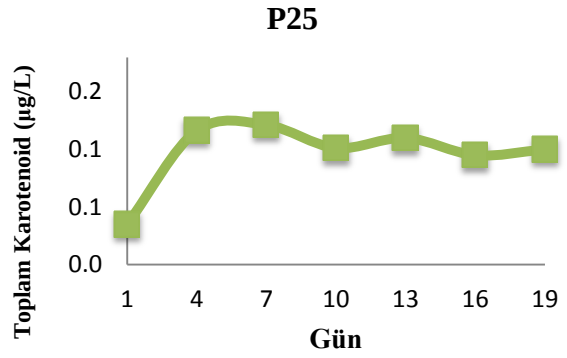
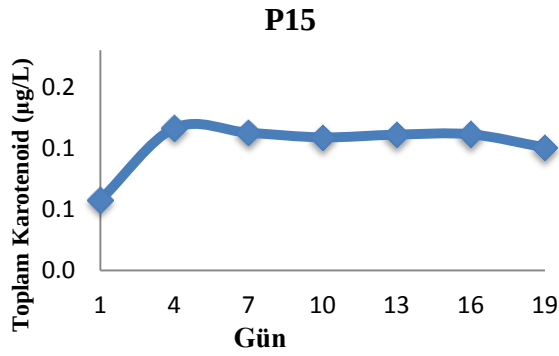
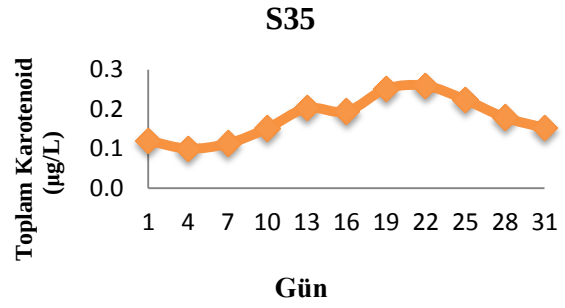
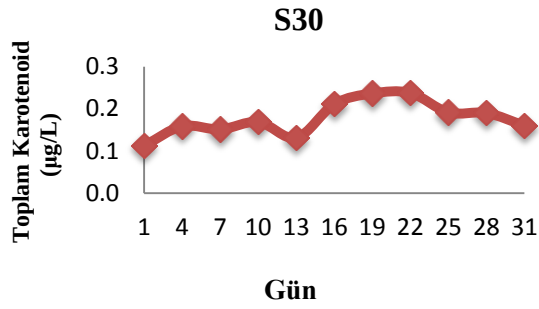
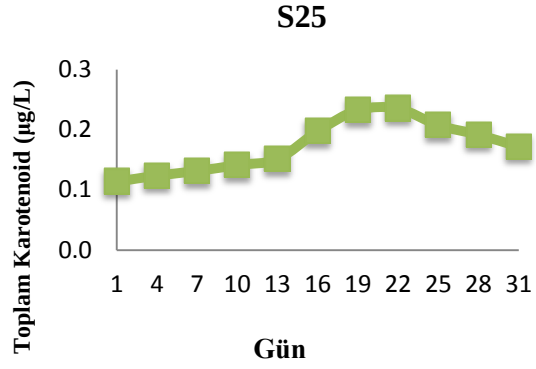
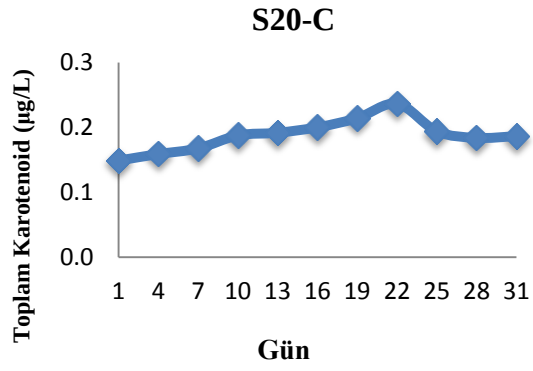
Tablo 4.1. Farklı tuz oranlarında (15-35%) yetiştirilen *S. platensis* ve *P. tricornutum*'un optik yoğunluk, kuru madde (kuru biyomas), klorofil-*a*, toplam karotenoid, fukoksantin, fikosiyanin, protein, kuru madde ve renk karşılaştırması

<i>S. platensis</i>					
Analizler (30. gün)	Stok (Aşı) kültür	S20-C	S25	S30	S35
Optik yoğunluk(OD ₆₈₀)		1,53±0,12 ^c	1,47±0,08 ^{bc}	1,13±0,04 ^a	1,39±0,08 ^b
Kuru madde (biyomas) (g/L)		10,01±0,63 ^b	9,66±0,96 ^a	9,05±0,14 ^a	9,20±0,70 ^a
Kuru madde (%)**		91,98±0,14 ^a	92,31±0,32 ^a	92,01±0,01 ^a	92,33±0,19 ^a
Klorofil- <i>a</i> (µg/L)		1253,18±123,45 ^a	1104,48±59,54 ^a	1112,38±23,61 ^a	1050,47±14,20 ^a
Toplam karotenoid (µg/L)		0,19±0,01 ^b	0,17±0 ^{ab}	0,16±0,01 ^{ab}	0,15±0,01 ^a
Fikosiyanin (mg/100g)	362,33±0,13 ^e	312,82±0,30 ^d	198,38±2,09 ^c	163,62±0,50 ^b	157,41±0,96 ^a
pH		8,60±0,03 ^c	8,37±0,04 ^b	8,60±0,15 ^c	8,10±0,02 ^a
Toplam ham protein (%)		55,33±0,21 ^d	53,43±0,25 ^c	52,77±0,19 ^b	51,07±0,33 ^a
Renk parametreleri:					
L*		38,61±0,37 ^c	32,09±0,23 ^b	29,45±0,30 ^a	32,18±0,09 ^b
a*		-4,64±0,31 ^a	-4,80±0,07 ^a	-3,15±0 ^b	-4,43±0,25 ^a
b*		4,13±0,12 ^b	2,26±0,13 ^a	1,62±0,03 ^a	2,74±0,30 ^a
C*		6,43±0,10 ^b	5,21±0,22 ^{ab}	3,37±0,20 ^a	5,38±0,06 ^{ab}
h		132,68±6,72 ^b	152,10±1,71 ^c	151,59±0,63 ^c	148,65±0,67 ^c
<i>P. tricornutum</i>					
Analizler (18. gün)	Stok (Aşı) kültür	P15	P25	P30-C	P35
Optik yoğunluk(OD ₆₈₀)		1,04±0,13 ^a	1,07±0,02 ^b	1,16±0,07 ^b	1,12±0,03 ^b
Kuru madde (biyomas) (g/L)		7,54±0,51 ^a	7,42±0,53 ^a	9,43±0,73 ^b	5,83±0,26 ^a
Kuru madde (%)**		91,74±0,30 ^a	92,22±0,22 ^a	91,58±0,58 ^a	92,10±0,20 ^a
Klorofil- <i>a</i> (µg/L)		512,47±82,27 ^{ab}	329,03±18,76 ^a	530,18±17,84 ^b	440,52±16,54 ^{ab}
Toplam karotenoid (µg/L)		0,10±0,01 ^a	0,10±0 ^a	0,12±0,01 ^{ab}	0,11±0,01 ^a
Fukoksantin (mg/100g)	188,00±0 ^d	146,44±1,72 ^b	137,87±1,49 ^a	174,60±1,70 ^c	141,05±1,58 ^a
pH		4,80±0 ^a	4,82±0,03 ^a	5,70 ±0,07 ^b	5,81±0,08 ^b
Toplam ham protein (%)		21,72±0,41 ^a	24,64±0,50 ^b	26,55±0,16 ^c	29,64±0,15 ^d
Renk parametreleri:					
L*		52,12±0,50 ^e	52,09±0,73 ^e	45,95±0,79 ^d	50,76±0,47 ^e
a*		1,41±0,06 ^d	0,54±0 ^c	5,74±0,25 ^f	2,95±0,14 ^e
b*		24,13±0,61 ^e	22,23±0,60 ^d	26,87±0,34 ^f	18,46±0,24 ^c
C*		24,21±0,56 ^d	22,73±0,10 ^d	25,56±2,20 ^d	18,13±0,78 ^c
h		85,96±0,60 ^a	87,22±1,43 ^a	78,79±0,21 ^a	81,23±0,23 ^a

Aynı satırdaki farklı harfler (a-f) istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05)

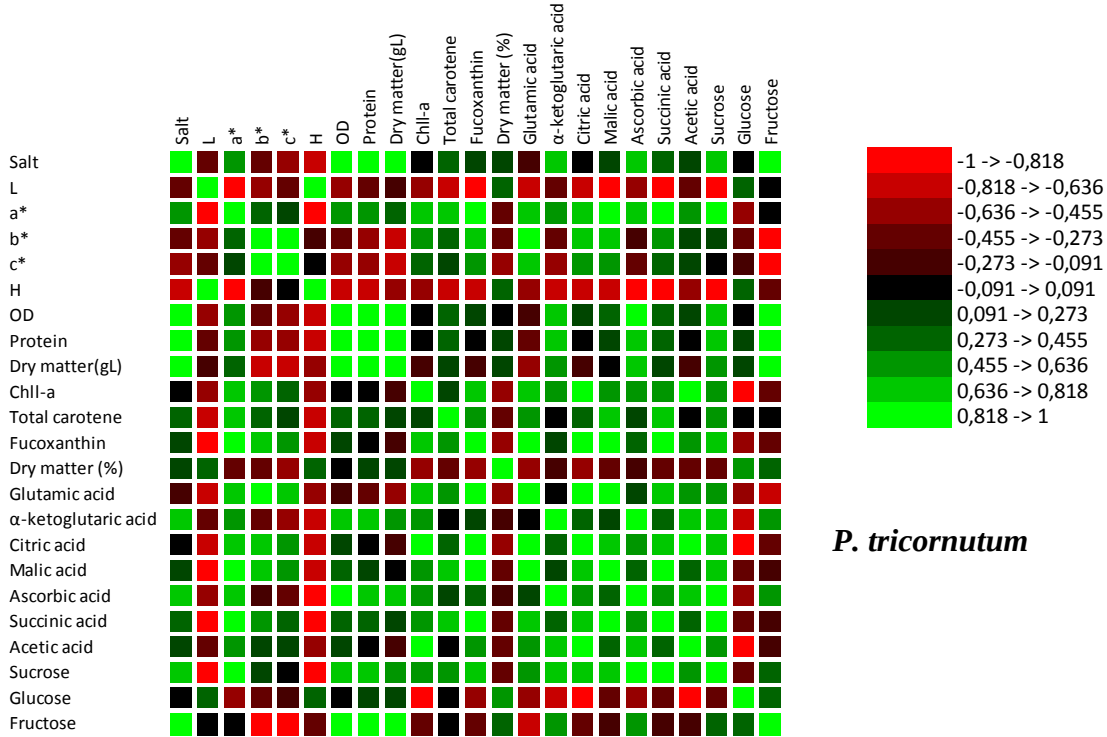
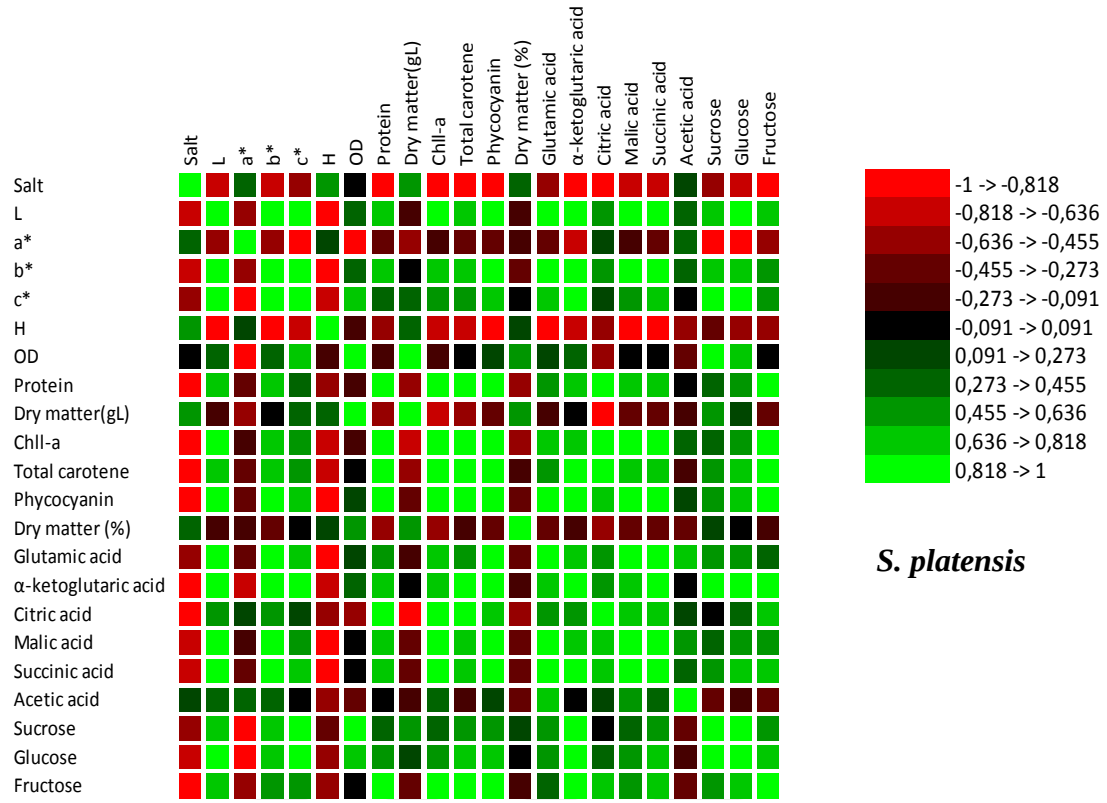
** Dondurularak kurutulmuş örneklerin kuru madde miktarı

Mikroalgler tarafından üretilen, önemli pigment ve antioksidan kaynağı olan diğer bir pigment grubu ise karotenoidlerdir (Buono ve diğerleri, 2014). Farklı tuz oranları kullanılarak yetiştirilen *S. platensis* ve *P. tricornutum* denemelerinde toplam karotenoid (µg/L) miktarındaki değişimler sırasıyla Şekil 4.4 ve Tablo 4.1’de verilmiştir. Denemenin başlangıcında *S. platensis* için toplam karotenoid miktarı S20-C için 0,14 µg/L, S25 için 0,11 µg/L, S30 için 0,11 µg/L ve S35 için ise 0,12 µg/L olarak belirlenmiştir. En yüksek toplam karotenoid miktarı 22. günde belirlenmiştir. Deneme süresince toplam karotenoid miktarında bir artış gözlenirken, 22. günden sonra azalma tespit edilmiştir. S20-C, S25, S30, S35 örnekleri için son gün belirlenen toplam karotenoid (µg/L) miktarları ise sırasıyla 0,19, 0,17, 0,16 ve 0,15 µg/L’dir. Önceki çalışmalarda, *S. platensis*’teki toplam karotenoid miktarı 0,5 ila 2,4 mg/g arasında değişmiştir (Gabr ve diğerleri, 2020; Ismaiel ve diğerleri, 2016)



Şekil 4.4. Deney süresince farklı tuz oranlarında (15-35%) yetiştirilen *S. platensis* ve *P. tricornutum* kültürlerinin toplam karotenoid içeriğindeki (µg/L) değişimler.

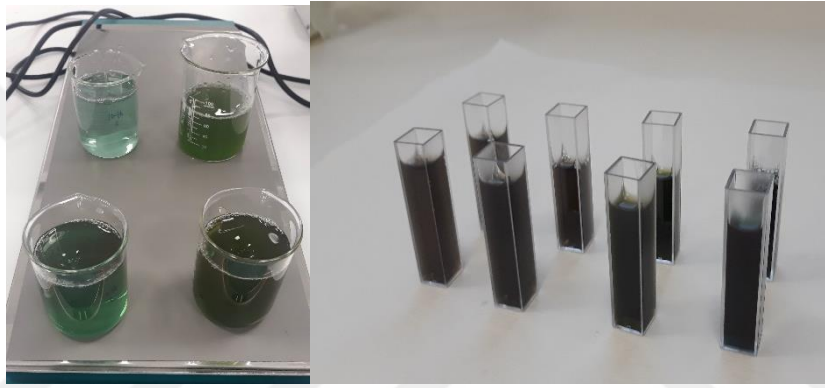
Farklı tuz oranı kullanılarak kültüre alınan *S. platensis* deneme gruplarının son gün belirlenen toplam karotenoid miktarları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir ($p < 0.05$). En yüksek toplam karotenoid ($\mu\text{g/L}$) miktarı kontrol grubunda (S20-C) belirlenmiştir. *P. tricornutum* örnekleri için denemelerin son gününde toplam karotenoid miktarları arasında önemli bir fark gözlenmemiştir ($p > 0.05$). Toplam karotenoid miktarları sırasıyla 0,10, 0,10, 0,12 ve 0,11 g/L olarak belirlenmiştir (Şekil 4.4). Önceki çalışmalarda, *P. tricornutum*'un toplam karotenoid miktarları 0,18 ile 6,14 mg/g arasında değişmiştir (Goiris ve diğerleri, 2014; Foo ve diğerleri, 2017). Mevcut çalışmada, *P. tricornutum* ve *S. platensis*'in tuz oranları, pigmentleri ve renk parametreleri arasında negatif ve güçlü bir korelasyon ($r = -0,50$ ila $-0,98$) bulunmuştur (Şekil 4.5). Karotenoidlerin antioksidan olarak görev yaptığı ve singlet oksijeni söndürme ve serbest radikalleri temizleme yeteneğine sahip olduğu belirtilmektedir (Susanto, Fahmi, Agustini, Rosyadi ve Wardani, 2017). Çalışmadan elde edilen her iki türün kontrol grupları için toplam karotenoid miktarlarının literatür ile uyumlu olduğu gözlenmiş ve tuz oranının artırılmasının toplam karotenoid miktarını azalttığı belirlenmiştir. Tuz oranındaki artışın fotosentetik faaliyetler üzerinde inhibisyona neden olarak klorofil-*a* ve toplam karotenoid miktarlarını azalttığı düşünülmektedir. Literatürde mikroalglerde klorofil-*a* ve karotenoid miktarı üzerine tuzluluğun etkisi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcut olduğundan bitkilerde klorofil-*a* içeriği üzerine tuz faktörünün etkisinin araştırıldığı çalışmalar karşılaştırma için kullanılmıştır (Uzlasir ve diğerleri, 2023a). Bitkilerin yetiştirilme ortamında tuz konsantrasyonunun artmasının bitkilerde klorofil-*a* ve karoten miktarında azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir (Islam, Park ve Lee, 2019). NaCl, stomaların kapanmasını tetiklemesinin yanında, kloroplast tilakoidlerinde yer alan proteinlerin yapısında da değişimlere neden olarak elektron transport aktivitesini etkilemektedir. Yapılan çalışmalar, artan Na^+ 'un oksijen oluşturan kompleksin yapısında değişimler meydana getirmesi ve Fotosistem II'nin reaksiyon merkezinde yer alan D1 proteininin degradasyonuna neden olması sebebiyle, NaCl'ün tilakoid zarında asıl hedefinin Fotosistem I olduğunu göstermektedir (Ferroni, Baldisserotto, Pantaleoni, Billi, P., Fasulo ve Pancaldi, 2007; Islam, Park ve Lee, 2019). Ayrıca, tuz stresinin fotosistemlerin ışık toplayıcı komplekslerinde yer alan fotosentetik pigmentlerin (klorofil ve karotenoid) miktarının azalmasına da neden olduğu saptanmıştır (Parida ve Das, 2005).



Şekil 4.5. *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin pigment, renk özellikleri, optik yoğunluk (OD₆₈₀), organik asit ve şeker içeriklerinin tuz oranlarına bağlı olarak korelasyon matrisi

4.1.4. Fikosiyanin analiz sonuçları

Fikosiyanin kokusuz, mavi renkli, suda çözünebilir, toksik olmayan, güçlü floresan özelliğe sahip doğal bir renk maddesi olarak bilinmektedir ve yapısı ise bağlı bulunduğu mikroorganizma çeşidine ve ortam koşullarına göre farklılık göstermektedir. *S. platensis*'e ait aşı kültürler ve farklı tuz konsantrasyonları kullanılarak kültüre alınan deneme gruplarının fikosiyanin miktarının nasıl değiştiğini belirlemek için analiz, aşı kültürlerde ve denemenin sonlandırıldığı gün yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 4. 1'de, fikosiyanin analizi için elde edilen ekstraktların renkleri Şekil 4. 6'da ve tuz konsantrasyonlarına bağlı korelasyon matrisi Şekil 4.5'te verilmiştir.



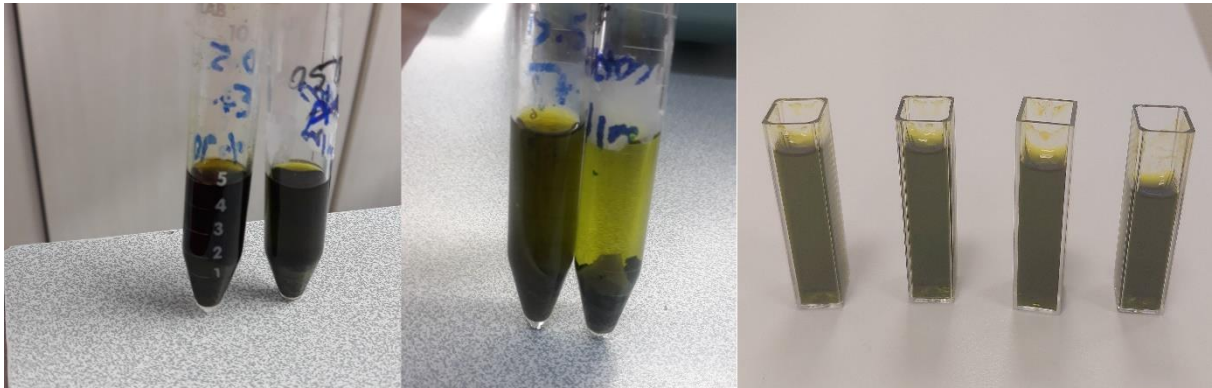
Şekil 4.6. Fikosiyanin analizi için elde edilen ekstraktlar

Fikosiyaninin prostetik grubu olarak kabul edilen ve proteinin karakteristik mavi renginden sorumlu olan fikosiyanobilin kromoforu farklı bölgelerden sistein aminoasitine bağlanarak fikosiyanin yapısını oluşturmaktadır (Contreras-Martel, Matamala, Bruna, Poo-Caamaño, Almonacid, Figueroa, Martínez-Oyanedel ve Bunster, 2007; Santiago-Santos, Ponce-Noyola, Olvera-Ramírez, Ortega-López ve Cañizaresvillanueva, 2004). Bu pigment gıda, tekstil, eczacılık ve kozmetikte sentetik pigmentlerin yerine, doğal pigmentler olarak kullanılabilir. Ayrıca, antioksidan, antikanser, antienflamatuar, nöroprotektif, hepatoprotektif, hipokolesterolemik ve radikal süpürücü özellikler gibi çeşitli farmakolojik aktiviteler sergilediği de bilinmektedir (Contreras-Martel ve diğerleri, 2007). Deneme başlangıcında fikosiyanin miktarı 362,33 mg/100 g iken, bu değer deneme boyunca azalmış ve deneme grupları arasında önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0,05$). Denemenin son gününde S20-C, S25, S30 ve S35 örnekleri için belirlenen fikosiyanin miktarları sırasıyla 312,82, 198,38, 163,62 ve 157,41 mg/100 g'dır. En yüksek miktar kontrol grubunda (S20-C), en düşük miktar ise S35 numunesinde belirlenmiştir. *S. platensis*'ten fikosiyaninin elde

edilmesinde farklı çözücülerin kullanıldığı çalışmada fikosiyanin miktarı 0,007-0,036 mg/mL olarak bildirilmiştir (Gabr ve diğerleri, 2020). *S. platensis*'te bulunan biyoaktif metabolitlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu ile yapılan bir çalışmada fikosiyanin miktarı 9-200 mg/100 g arasında bulunmuştur (Esquivel-Hernández, Rodríguez-Rodríguez, Rostro-Alanis, Cuéllar-Bermúdez, Mancera-Andrade, Núñez-Echevarría ve Parra-Saldívar, 2017). Bu çalışmada elde edilen veriler Gabr ve diğerleri (2020)'nin yaptığı çalışma ile karşılaştırıldığında yüksek, Esquivel-Hernández ve diğerleri (2017)'in yaptığı çalışma ile karşılaştırıldığında ise kontrol grubu yüksek, tuz konsantrasyonunun artırılması ile elde edilen fikosiyanin miktarları ise benzer aralıkta bulunmuştur. Ueda, Kanechi, Uno ve Inagaki (2003), tuz içeriğindeki artışa bağlı olarak hücrelerin fotosentez ve protein sentez kapasitelerinin azaldığını, bunun da büyüme hızı ve sonuç olarak üretilen metabolitler üzerinde önemli sınırlayıcı etkilere yol açtığını belirtmiştir. Mevcut çalışmada elde edilen fikosiyanin miktarındaki azalma bu bilgi ile açıklanabilmektedir.

4.1.5. Fukoksantin sonuçları

Kahverengi algler polisakkaritler, polifenoller, fukosterol ve fukoksantin bileşikleri bakımından zengindir (Miyashita, Nishikawa, Bepp, Tsukui, Abe ve Hosokawa, 2011). Kahverengi algler antimikrobiyal, antioksidan, antienflamatuar, antikoagülan ve antitrombotik etkileri nedeniyle gıda, kozmetik, ilaç ve biyoenerji alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Eom, Kim ve Kim, 2012; Synytsya, Kim, Kim, Pohl, Synytsya ve Kvasnička 2010). *P. tricornutum*'a ait aşı kültürler ve farklı tuz konsantrasyonları kullanılarak kültüre alınan deneme gruplarının fukoksantin miktarları Tablo 4. 1'de verilmiştir. *P. tricornutum*'dan elde edilen fukoksantin ekstraktları ise Şekil 4. 7'de verilmiştir.



Şekil 4.7. *P. tricornutum*'dan elde edilen fukoksantin ekstraktları

Deney grupları arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir ($p<0,05$). Başlangıçtaki fukoksantin miktarı 188 mg/100 g iken, P15, P25, P30-C ve P35 örnekleri için miktarlar sırasıyla 146,44, 137,87, 174,60 ve 141,05 mg/100 g olarak belirlenmiştir. En yüksek miktar kontrol numunesinde (P30-C), en düşük miktar ise P25 numunesinde gözlenmiştir. Tuz konsantrasyonunun fotosentetik mekanizmayı olumsuz etkilediği ve buna bağlı olarak fukoksantin miktarının azaldığı tespit edilmiştir (Uzlasir ve diğerleri, 2023a). Çeşitli mikroalglerin yağ kompozisyonu ve antioksidan özelliklerinin incelendiği çalışmada, *P. tricornutum*'un fukoksantin miktarı 24,30 mg/g KA olarak belirlenmiştir (Banskota ve diğerleri, 2018). Foo ve diğerleri (2017), *P. tricornutum*'un fukoksantin miktarını 7 mg/100 g olarak belirlemişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise, fukoksantin miktarı 15,71 mg/g KA olarak bildirilmiştir (Kim ve diğerleri, 2012). Wu ve diğerleri (2016), altı farklı *P. tricornutum* suşunun fukoksantin miktarlarının 214 ile 550 mg/100 g arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Farklı çözücülerin (aseton, %80 (v/v) metanol, DMSO ve etanol) fukoksantin verimi üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, en yüksek fukoksantin miktarı 1760 mg/100 g ile asetonda belirlenmiştir (Kawee-ai, Kuntiya ve Kim, 2013). Neumann, Louis, Gille, Derwenskus, Schmid-Staiger, Briviba ve Bischoff (2018)'nin farklı çözücüler kullanarak yaptıkları çalışmada, etanol ile hazırlanan ekstraktların fukoksantin miktarının hekzanla hazırlanana göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir ve miktarları sırasıyla 2,67 ve 1,37 mg/100g olarak belirlenmiştir. Fukoksantin kararsız yapılı bir bileşiktir ve ısı, ışık ve nemle kolayca bozulabilmektedir (Zhao, Kim, Pan ve Chung, 2014). Fukoksantin polar yapıda olduğundan genellikle aseton, etil asetat, metanol, etanol ve bu çözücülerin farklı oranlarda su ile karıştırılması ile elde edilen daha polar çözücüler ile ekstrakte edilebilmektedir (İlter, Akyıl, Koç ve Kaymak-Ertekin, 2017). Fukoksantin ve fikosiyaninde meydana gelen azalmanın nedeni olarak tuz faktörünün, pigmentlerin biyosentezi üzerindeki inhibe edici etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Tuz stresine bağlı olarak kloroplast yapısında kompleks pigment protein sıvıları üretilemediğinden, pigmentlerin biyosentezinin azaldığı düşünülmektedir (Ishika, Moheimani, Bahri, Laird, Blair ve Parlevliet, 2017; Munns, 2002; Stepien ve Johnson, 2008).

4.2. Deneme Sonunda Elde Edilen ve Dondurularak Kurutulan Ürünlerde Yapılan Analizler

4.2.1. pH ölçümü sonuçları

Alglerin büyümesi, pH seviyelerindeki değişikliklerden, fotosentezi engelleyebilecek mevcut karbon değişiminden veya hücre zarı geçişlerinin bozulmasından etkilenmektedir. *S. platensis* ve *P. tricornutum*'un pH değerleri Tablo 4. 1'de verilmiş olup farklı tuz konsantrasyonlarının pH üzerinde önemli farklılıkların ($p<0.05$) oluşmasına yol açtığı gözlenmiştir. *S. platensis* için en yüksek pH S20-C ve S30 örneklerinde tespit edilmiştir. *S. platensis*'in gelişmek için yüksek bir pH (8-11) değerine ihtiyaç duyduğu bildirilmiştir (Newsted, 2004). En yüksek pH değeri *P. tricornutum*'da P35 örneğine gözlenirken, en düşük pH değeri P15 örneğinde saptanmıştır. *P. tricornutum*'un gelişebilmesi ve ortamdaki bakteri veya diğer türlere karşı baskın olabilmesi için gereken pH'nın 6-9 arasında olduğu belirtilmiştir (Goldman, Riley ve Dennett, 1982). *S. platensis*'in antioksidan aktivitesi üzerinde pH'nın etkisinin incelendiği bir çalışmada, en yüksek antioksidan kapasiteye pH 8,5'te ulaşıldığı tespit edilmiştir (Ismail ve diğerleri, 2016).

4.2.2. Toplam ham protein (%) analizi sonuçları

İnsan vücudunun yapı taşları olarak da bilinen proteinler, bir bireyin genel büyümesinden sorumlu temel makro besinlerdir (Krishna Koyande, Chew, Rambabu, Tao, Chu ve Show, 2019). Besinlerin fonksiyonel özelliklerinin araştırması ve biyolojik aktivite tespiti için gıdalardaki protein miktarı önemli bir parametredir. Protein analiz yöntemlerinin temel prensipleri azot ve peptid bağlarının belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Dondurularak kurutulan *S. platensis* ve *P. tricornutum*'un % protein miktarları Tablo 4. 1'de verilmiştir. Kültür ortamlarına uygulanan farklı tuz konsantrasyonlarının protein içerikleri üzerinde önemli farklılıklara ($p<0,05$) neden olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada, *S. platensis* örneklerinin protein içeriği %51,07 ile %55,33 arasında değişmiştir. En yüksek protein miktarı kontrol örneğinde (S20-C) (%55,33), en düşük protein miktarı ise S35 örneğinde (%51,07) tespit edilmiştir. Artan tuz konsantrasyonu *S. platensis* örneklerinin protein içeriğinde azalmaya yol açmıştır. Yapılan önceki çalışmalarda, *S. platensis*'in protein içeriğinin %50 ile 77 arasında değiştiği ve *S. platensis*'in antioksidan, anti inflamatuvar, antiviral, antibakteriyel ve nöroprotektif aktivitelerin protein oranına bağlı olarak değiştiği belirtilmiştir (Seghiri ve diğerleri, 2019; Sarada, Kumar ve Rengasmy, 2011). *P. tricornutum*

örneklerinin protein içeriği ise %21,72 ile %29,64 arasında değişmiştir. En yüksek protein içeriği P30-C (%26,55) ve P35 (%29,64) örneklerinde, en düşük protein içeriği ise P15 örneğinde (%21,72) belirlenmiştir. *P. tricornutum* ile yapılan önceki çalışmalarda protein miktarları %36 ile %39 arasında değişmiştir (Wu ve diğerleri, 2016; Reboloso-Fuentes ve diğerleri, 2000; Uzlasir, Selli, Kelebek, 2023c, 2024). Fotobiyoreaktörlerde kültüre alınan tatlı su ve deniz mikroalglerinin kimyasal bileşimi ve beslenme özellikleri üzerine yapılan bir çalışmada, *P. tricornutum*'un protein miktarı %39,6 olarak saptanmıştır (Tibbetts ve diğerleri, 2014). Çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda *P. tricornutum* için toplam protein miktarı (%27,12-29,64) literatürdeki veriler ile karşılaştırıldığında düşük bulunmuştur. *S. platensis* için ise toplam protein miktarı literatürde belirtilen miktarlar (Kuatrakul, Kuarthongsri, Yabuuchi, Somsai ve Utama-Ang, 2017; Sarad, Kumar ve Rengasmy, 2011; Seghiri ve diğerleri, 2019) ile benzerlik göstermektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde ise *S. platensis*'in protein miktarının *P. tricornutum*'dan yüksek olduğu saptanmıştır. Mevcut çalışmada, *S. platensis* kültürlerinin tuz içerikleri ile protein içerikleri arasında güçlü negatif ($r = -0,97$) ve *P. tricornutum* kültürlerinin tuz içerikleri ile protein içerikleri arasında pozitif ($r = 0,99$) korelasyonlar saptanmıştır (Şekil 4.5). Yüksek tuzluluk mikroalglerdeki metabolizmanın bozulması, büyümenin engellenmesi ve kalite kaybı gibi ciddi hasarlara yol açmaktadır. İyonların neden olduğu toksisitenin yanı sıra tuzluluk ve ozmotik stres hem fotosentezi hem de protein sentezini olumsuz etkileyen hücre hasarına neden olur (Ueda ve diğerleri, 2003). Mikroalglerin biyokimyasal bileşiminin, farklı yaşam koşullarında hayatta kalma yeteneklerinin yanı sıra yetiştirme dönemi boyunca üretim parametrelerinden (sıcaklık, tuz, pH, ışık vb.) etkilendiği düşünülmektedir. Dolayısıyla, mevcut çalışmada elde edilen protein içeriği miktarındaki düşüş bu durum ile açıklanabilir.

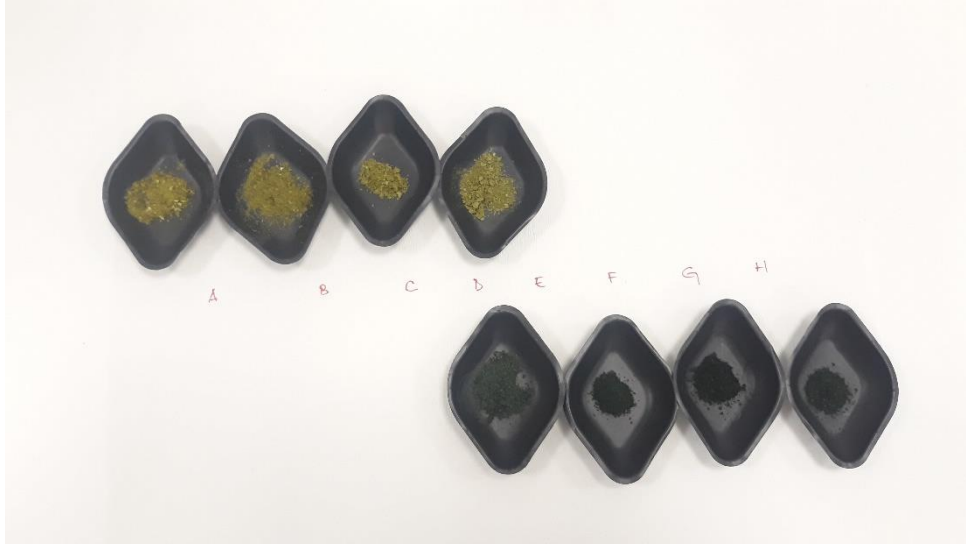
4.2.3. Kuru madde miktarı (%) sonuçları

Dondurularak kurutulan *S. platensis* ve *P. tricornutum*'un kuru madde (%) miktarları Tablo 4.1'de verilmiştir. Denemelerin kuru madde içerikleri %91-92 olarak belirlenmiş ve istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0.05$). Banskota ve diğerleri (2018)'nın, çeşitli mikroalglerin yağ kompozisyonu ve antioksidan özelliklerinin incelendikleri çalışmada, *P. tricornutum*'un kuru madde miktarı %97,2 olarak saptanmıştır. Farklı kurutma işlemlerinin *S. platensis*'in fiziksel özellikleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmada kuru madde miktarı %81,38 olarak belirlenmiştir (Kuatrakul ve diğerleri, 2017). *S. platensis*'in antioksidan aktivitesi ve fitokimyasal bileşikleri üzerine farklı işleme yöntemlerinin etkilerinin incelendiği

çalışmada, kuru madde miktarının %85,5 olduğu belirtilmiştir (Nouri ve Abbasi, 2018). Büyüme ortamının CO₂ ile zenginleştirildiği çalışmada ise, normal besi ortamında kültüre alınan *S. platensis*'in kuru madde miktarı %96,2, CO₂ ile zenginleştirilmiş büyüme ortamında ise %96,1 olarak bulunmuştur (Aydi, Aydi, Ben Abdallah Kolsi, Haddeji, Rahmani, Ktari ve Bouajila, 2020).

4.2.4. Renk ölçümü sonuçları

Doğal gıdaların renkleri içerdikleri çok çeşitli kimyasal formlara sahip olan ve pigment olarak tanımlanan maddelerden kaynaklanmaktadır. Mikroalgler, ürettikleri klorofil, karotenoid gibi maddeler gıda endüstrisinde doğal renklendirici olarak, kozmetik endüstrisinde ise antioksidan özelliği nedeniyle kullanılmaktadır (Bai, Cheng, Wan ve Lin, 2011). Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen dondurularak kurutulmuş *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin renk parametreleri arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.05$) (Tablo 4.1). *S. platensis* için en yüksek L* değeri S35 numunesinde, en düşük değer ise S20-C örneğinde gözlenmiştir. L* değerlerine ilişkin bulgular, *S. platensis* örneklerinin renginin *P. tricornutum* örneklerinden daha koyu olduğunu göstermektedir. *P. tricornutum* kültürü için en yüksek L* değeri P15 ve P25 örneklerinde gözlenirken, en düşük değer P30-C kontrol örneğinde belirlenmiştir. *P. tricornutum* ve *S. platensis* örneklerinde a* değeri sırasıyla 0,54-5,74 ve -3,15 ile -4,80 arasında değişirken, b* değeri bu kültürlerde sırasıyla 18,46-26,87 ve 1,62-4,43 arasında değişmiştir. Diğer iki renk parametresiyle ilgili olarak, kontrol gruplarının değerlerine kıyasla C* değerinin önemli ölçüde azaldığı, h değerinin ise önemli ölçüde arttığı görülmüştür. *S. platensis*'in tipik mavi-yeşil rengi klorofil a ve fikosiyanın pigmentinden kaynaklanırken (Wu ve diğerleri, 2016), *P. tricornutum*'un parlak sarımsı turuncu rengi kahverengi deniz alglerinde ve diyatomlarda bulunan turuncu renkli fukoksantin pigmentinden kaynaklanmaktadır (Xia ve diğerleri, 2013) (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. *P. tricornutum* (üst) ve *S. platensis* (alt) toz örnekler

4.2.5. Antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde miktarı (TFM) analiz sonuçları

Dondurularak kurutulan toz örneklerde antioksidan aktivite, DPPH, CUPRAC ve ABTS olmak üzere üç farklı yöntemle belirlenmiştir. *S. platensis* ve *P. tricornutum* toz örneklerine ait DPPH, CUPRAC, ABTS ve TFM sonuçları Tablo 4. 2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Dondurularak kurutulmuş *S. platensis* ve *P. tricornutum* toz örneklerindeki yetiştirme ortamındaki tuz oranına bağlı olarak antioksidan kapasite (DPPH, ABTS ve CUPRAC) ve toplam fenolik madde miktarının (TFM) değişimi

Türler	Örnekler	Antioksidan Kapasite Analizleri			
		DPPH	ABTS+	CUPRAC	TFM
<i>S. platensis</i>	S20-C	172,67 ± 3,21 ^{Fc}	655,59 ± 12,05 ^{Gd}	104,96 ± 2,27 ^{Fd}	204,80 ± 0,66 ^{Fc}
	S25	151,65 ± 2,65 ^{Eb}	425,43 ± 12,59 ^{Fc}	48,32 ± 0,04 ^{Ca}	171,18 ± 0,96 ^{Eb}
	S30	140,66 ± 0,96 ^{Da}	404,30 ± 1,39 ^{Eb}	77,03 ± 1,61 ^{Ec}	166,00 ± 0,49 ^{Da}
	S35	137,18 ± 0,50 ^{Da}	373,78 ± 3,11 ^{Da}	70,77 ± 1,76 ^{Db}	163,96 ± 2,84 ^{Da}
<i>P. tricornutum</i>	P15	27,47 ± 0,83 ^{Aa}	97,65 ± 3,21 ^{Aa}	32,12 ± 0,27 ^{Aa}	63,51 ± 0,43 ^{Aa}
	P25	56,80 ± 2,09 ^{Bb}	123,18 ± 0,40 ^{BCbc}	32,02 ± 0,45 ^{Aa}	75,95 ± 1,37 ^{Bb}
	P30-C	79,40 ± 1,71 ^{Cc}	141,89 ± 2,85 ^{Cc}	44,00 ± 0,69 ^{Bb}	82,46 ± 1,07 ^{Cc}
	P35	29,76 ± 0,50 ^{Aa}	119,05 ± 2,61 ^{Bb}	31,14 ± 0,09 ^{Aa}	72,63 ± 0,30 ^{Bb}

DPPH, ABTS ve CUPRAC: mM Trolox/100 g KA, TPC: mg GA/100 g KA; KA: Kuru ağırlık

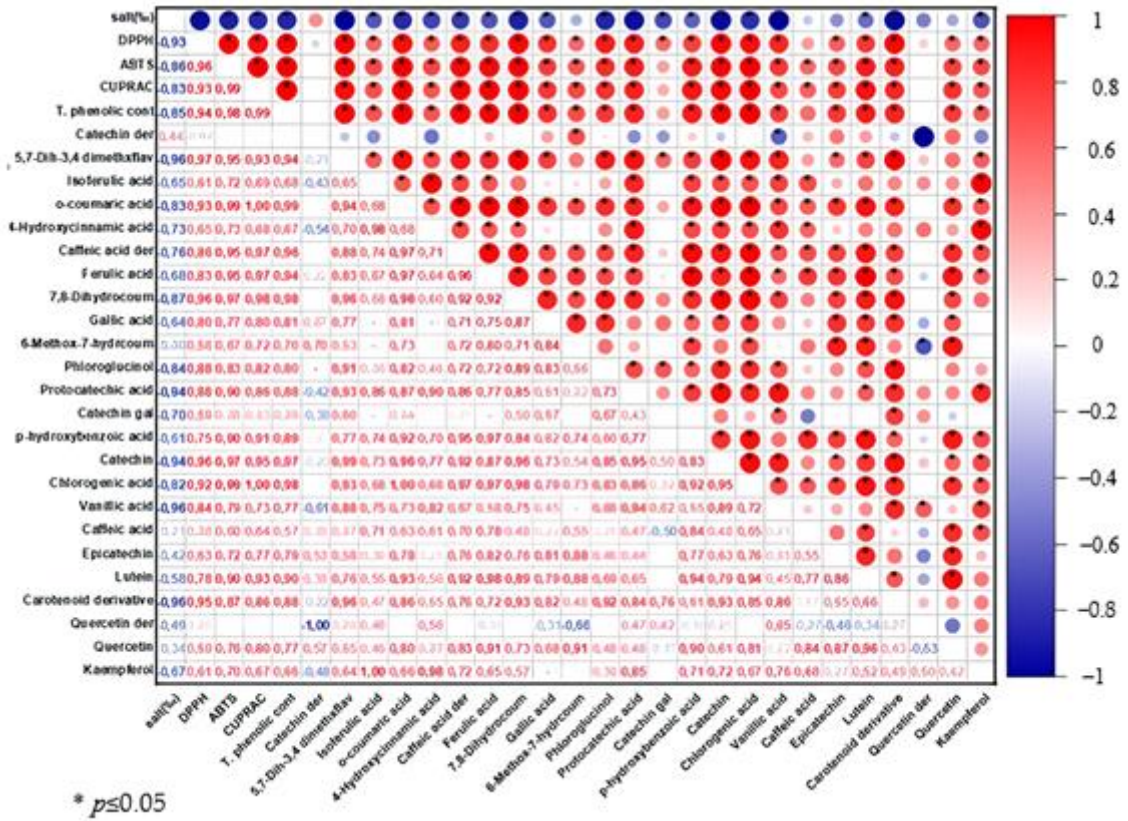
Aynı sütundaki farklı üst simgeler p<0,05 düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

* (a-d): *S. platensis* ve *P. tricornutum* örnekleri için ayrı ayrı tuz konsantrasyonları içindeki istatistiksel farklılıkları gösterir.

* (A-G): *S. platensis* ve *P. tricornutum* örnekleri arasındaki istatistiksel farklılıkları gösterir.

DPPH Analizi Sonuçları: *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin yapısında bulunan fikosiyanin, fukoksantin ve fenolik bileşiklerin antioksidan aktivite gösterdiği bilinmektedir. Tablo 4.2, mevcut çalışmada değerlendirilen örneklerin antioksidan kapasitelerini göstermektedir. Örneklerin DPPH kapasiteleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0.05$). *S. platensis* örneklerinde DPPH yöntemiyle belirlenen en yüksek antioksidan kapasite 172,67 mM Trolox/100 g KA ile S20-C örneğinde gözlenmiştir. *S. platensis* örnekleri için tuz oranı ile DPPH ile belirlenen antioksidan miktarı arasında negatif yönlü ve güçlü bir korelasyon ($r = -0,93$) saptanmıştır (Şekil 4.9). *P. tricornutum* örneklerinde ise DPPH yöntemiyle belirlenen en yüksek antioksidan kapasite 79,40 mM Trolox/100 g KA ile P30-C örneğinde gözlenirken, en düşük aktivite P25 örneğinde tespit edilmiştir. *P. tricornutum* örnekleri için uygulanan tuz konsantrasyonu ile DPPH arasında pozitif ve orta düzeyde bir korelasyon ($r = 0,28$) gözlenmiştir (Şekil 4.10). Tablo 4.2'de görülebileceği gibi, artan veya azalan tuz konsantrasyonları fenolik bileşiklerin biyosentezini olumsuz yönde etkileyerek toplam fenolik madde (TFM) miktarında ve antioksidan kapasitede azalmaya yol açmıştır. German-Báez ve diğerleri (2017), *P. tricornutum* örneklerinin DPPH yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasitesini 9,54 mM Trolox/g KA olarak belirlerken, Kuatrakul ve diğerleri (2017), *S. platensis* örnekleri için DPPH yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasite potansiyelini 69,82 mg/100 g KA olarak rapor etmiştir. Tuz stresinin bitkilerdeki antioksidan aktivite üzerindeki etkisiyle ilgili olarak, daha önce yapılan bazı çalışmalarda yüksek tuz konsantrasyonlarının abiyotik strese neden olarak antioksidan aktiviteyi arttırdığı, bazı çalışmalarda ise antioksidan aktivite potansiyelinde düşüslere neden olduğu bildirilmiştir (Bourgou, Ksouri, Bellila, Skandrani, Falleh ve Marzouk, 2008; (Uzlasir, Selli, Kelebek, 2023b; Uzlasir, Şaşmaz, Kelebek, 2024b; Yuan, Wang, Guo ve Wang 2010). Önceki çalışmalarla uyumlu olarak, tuz stresinin abiyotik strese neden olarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretim ve inhibisyon mekanizmaları arasında bir dengesizliğe yol açtığı ve sonuçta antioksidan aktiviteyi azalttığı düşünülmektedir.

ABTS Analizi Sonuçları: En yüksek ABTS kapasitesi P30-C ve S20-C kodlu örneklerde sırasıyla 141,89 ve 655,59 mM Trolox/100 g KA olarak belirlenmiştir ($p < 0,05$) (Tablo 4.2). *P. tricornutum*'un kimyasal bileşimi ve fizikokimyasal özelliklerinin incelendiği bir çalışmada ABTS yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasite potansiyeli 67,93 mM Trolox/100 g KA olarak belirlenmiştir (German-Báez ve diğerleri, 2017). Bu çalışmada tuz konsantrasyonu ile ABTS arasında *S. platensis* örnekleri için negatif yönlü ve güçlü bir korelasyon ($r = -0,86$) bulunurken (Şekil 4.9), *P. tricornutum* örnekleri için pozitif yönlü ve orta düzeyde korelasyon ($r = 0,67$) gözlenmiştir (Şekil 4.10).

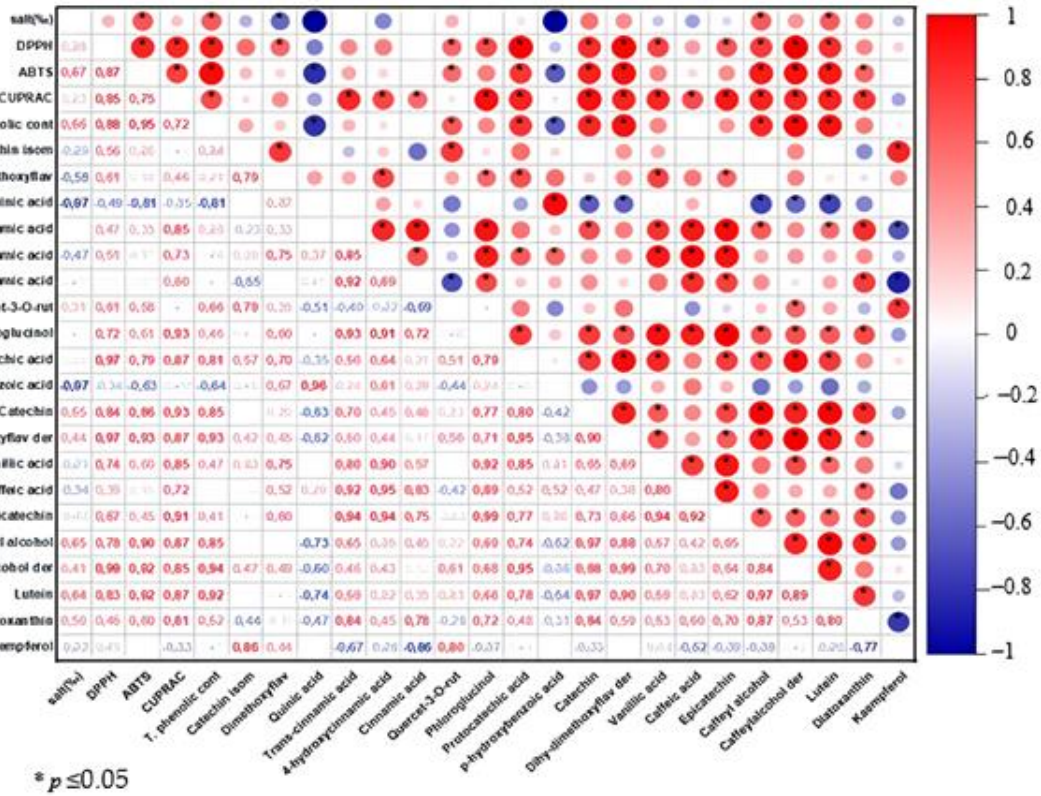


Şekil 4.9. *S. platensis* örneklerinin antioksidan aktivitesi ve fenolik profilinin korelasyon matrisi

Yapılan çalışmalarda, ABTS yöntemi kullanılarak değerlendirilen *P. tricornutum* örneklerinin maksimum antioksidan kapasitesinin 758,28 mM TE olarak bulunduğu ve bu değer 20 °C sıcaklık ve pH 5,5 optimum koşulları altında 28,36 dakika ekstraksiyon ile elde edildiği bildirilmiştir (Khawli, Martí-Quijal, Pallarés, Barba ve Ferrer, 2021). Goiris ve diğerleri (2014) *P. tricornutum*'un ABTS yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasitesinin 4,55 ile 48,90 mM Trolox/100 g KA arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada elde edilen antioksidan kapasite değerlerinin bu önceki çalışmaların verilerine kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Uzlasir ve diğerleri, 2023b, 2024b).

CUPRAC Analiz Sonuçları: Farklı tuz konsantrasyonunun CUPRAC yöntemiyle belirlenen antioksidan değerleri Tablo 4.2'de verilmiştir. Görüldüğü gibi tuz konsantrasyonuna bağlı olarak CUPRAC verileri arasında önemli farklılıklar ($p < 0,05$) saptanmıştır. CUPRAC değerleri *P. tricornutum* ve *S. platensis* örneklerinde sırasıyla 31,14 - 44,00 ve 48,32 - 104,96 mM Trolox/100 g KA arasında değişmiştir (Tablo 4.2). Her iki tür için de en yüksek CUPRAC değerlerinin kontrol gruplarında olduğu gözlenmiştir. Uygulanan tuz

konsantrasyonları ile CUPRAC verileri arasında *S. platensis* örnekleri için negatif yönlü ve güçlü bir korelasyon ($r = -0,83$) (Şekil 4. 9), *P. tricornutum* örnekleri için ise pozitif yönlü ve orta düzeyde bir korelasyon ($r = 0,23$) gözlenmiştir (Şekil 4.10). Antioksidan kapasitelerin uygulanan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak azaldığı ve *S. platensis*'in *P. tricornutum*'dan daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Uzlasir ve diğerleri, 2023b). Golmakani, Moosavi-Nasab, Keramat ve Mohammadi, (2018) *S. platensis* için CUPRAC yöntemiyle belirlenen antioksidan potansiyelinin 78,32 mg askorbik asit/mL olduğunu bildirmişlerdir. Tuz stresi, reaktif oksijen türlerinin uyarılması ve ortadan kaldırılması arasındaki dengeyi bozarak oksidatif strese neden olmaktadır ve H_2O_2 , O_2 ve OH^- gibi aşırı radikal türleri alg hücre bileşenlerine zarar vererek hücre ölümüne yol açmaktadır (Goiris ve diğerleri 2014).



Şekil 4.10. *P. tricornutum* örneklerinin antioksidan aktivitesi ve fenolik profilinin korelasyon matrisi

Üç farklı ticari *S. platensis* 'in kullanıldığı tez çalışmasında örneklerin, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite (DPPH, ABTS ve CUPRAC) potansiyelleri değerlendirilmiştir. En yüksek DPPH miktarı ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir fenolikler için sırasıyla 108,56 ve 129,01 μmol Trolox/g KM, ABTS için ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir

fenolikler için sırasıyla 5,04 ve 132,03 µmol Troloks/g KM ve CUPRAC için ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir fenolikler ise 52.62 ve 206.15 µmol Troloks/ g KM olarak hesaplanmıştır (Şen, 2019).

Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı Analiz Sonuçları: *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin toplam fenolik bileşikleri (TFM) Tablo 4.2'de sunulmuştur. En yüksek TFM, S20-C ve P30-C örneklerinde sırasıyla 204,80 ve 82,46 mg GA/100 g KA ile kontrol örneklerinde gözlenmiştir ($p<0,05$). Uygulanan tuz konsantrasyonu ile TFM değerleri arasında *S. platensis* örnekleri için negatif ve güçlü ($r= -0,94$), *P. tricornutum* örnekleri için ise pozitif ve orta düzeyde ($r= 0,66$), bir korelasyon belirlenmiştir (Şekil 4.9 ve 4.10). Yetiştirme ortamındaki tuz miktarlarının artması ya da azalması antioksidan kapasiteye benzer şekilde TFM miktarında da azalmaya neden olmuştur (Uzlasir ve diğerleri, 2023b, 2024b). Daha önce yapılan üç çalışmada, *S. platensis* örneklerinin TFM içerikleri Bolanho, Egea, Jacome, Campos, Carvalho ve Danesi (2014) tarafından 12,2 g GA/kg, Esquivel-Hernández ve diğerleri (2017) tarafından 146 mg GA/100 g ve Martelli, Cirlini, Lazzi, Neviani ve Bernini (2020) tarafından 318-340 mg GA/100 g olarak bildirilmiştir. Elloumi, Jebali, Maalej, Chamkha ve Sayadi, (2020) tuzluluğun *Scenedesmus* sp. mikroalglerinin gelişimi ve üretimi üzerindeki etkisini test etmek için Modifiye Detmer ortamında (MDM) farklı miktarlarda NaCL kullanmışlardır. Yüksek tuzluluğun mikroalg büyümesini engellediğini, ancak düşük tuzluluğun büyümelerini teşvik ettiğini belirlemişlerdir. Ayrıca, düşük konsantrasyonlu tuz stresi ile klorofil ve karotenoid seviyeleri artmıştır. Benmoussa-Dahmen, Chtourou, Rezgui, Sayadi ve Dhouib (2016) *Dunaliella* sp. ve *Amphora subtropica*'nın büyümesinin sırasıyla 3 M NaCL ve 1 M NaCL altında arttığını ve bu optimal tuz konsantrasyonlarının altında ve üstünde azaldığını göstererek tuzluluğun mikroalgal büyümede önemli bir rol oynadığını ve *Dunaliella* sp. ve *A. subtropica* gibi halofilik türlerin büyümesi için gerekli olduğunu belirtmişlerdir.

Farklı kurutma işlemlerinin *S. platensis* örneklerinin fiziksel özellikleri üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada, TFM içeriği 371,43 mg GA/100 g olarak saptanmıştır ve *S. platensis* örneklerinin *P. tricornutum*'a kıyasla daha yüksek TFM ve antioksidan kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir (Kuatrakul ve diğerleri, 2017). Her iki türde de kontrol örnekleri en yüksek TFM ve antioksidan kapasiteye sahiptir. *P. tricornutum* örneklerinde %15 tuz konsantrasyonunda (P15) düşük bulunan TFM ve antioksidan kapasite, %30 tuz konsantrasyonuna (P30-C) kadar artmış ve daha sonra düşüş göstermiştir. *S. platensis* türünde

ise %20 kontrol tuz miktarı (S20-C) ile yetiştirilen örnek en yüksek TFM ve antioksidan kapasiteye sahip olmuş ancak artan tuz konsantrasyonu bu değerin düşmesine neden olmuştur. Bu çalışmada elde edilen veriler literatürde bildirilen verilerle karşılaştırıldığında antioksidan kapasite sonuçlarında bazı farklılıklar gözlenmiştir. Mikroalgler, antioksidan tepki mekanizmalarını kullanarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) etkisini önleyebilir. Bu nedenle, ROS ve antioksidan yanıt mekanizması mikroalg türlerine göre değişir ve hücre boyutu, hücre şekli, hücre yoğunluğu, büyüme aşaması, ışık, sıcaklık, besinler ve abiyotik stres faktörlerine bağlıdır (Ugya, Imam, Li, Ma ve Hua, 2020). Fenolik bileşiklerin miktarını etkileyen diğer önemli parametreler ekstraksiyon koşullarıdır. Zaman, sıcaklık ve çözücü türü gibi çeşitli faktörler fenolik bileşiklerin miktarını etkileyebilmektedir. Fenolik bileşik verimini en üst düzeye çıkarmak için bu ekstraksiyon koşullarını optimize etmek esastır. Bir çalışma, *P. tricornutum* kültürlerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda zamanı birincil faktör olarak tanımlamıştır (Khawli ve diğerleri, 2021). Çalışmada, toplam fenolik içeriğin ekstraksiyon işlemi sırasında 16 dakikaya kadar arttığı, daha sonra azalmaya başladığı bildirilmiştir. Bu bulgular, Parniakov, Apicella, Koubaa, Barba, Grimi, Lebovka, Pataro, Ferrari ve Vorobiev, (2015), tarafından *Nannochloropsis* spp. için bildirilen ve ultrason yardımı kullanılarak TFM'lerin optimum ekstraksiyonunun 15 dakika sonra elde edildiğini gösteren sonuçlarla uyumludur. Mikroalgler üzerine tuz konsantrasyonunun etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmadığından bir kıyaslama yapılamamıştır. Genel bir değerlendirme olarak, tuza bağlı stres koşullarının fenolik ve antioksidan kapasitede azalmaya yol açtığı söylenebilmektedir.

4.2.6. LC-ESI-MS/MS ile belirlenen fenolik bileşiklerin sonuçları

Fenolik bileşikler, bir veya birden fazla hidroksil grubuna bağlanmış benzen halkasına ve fonksiyonel gruba sahip, bitkilerin sekonder metabolit olarak ürettiği bileşiklerdir. Meyve, sebze, tahıl ve çeşitli bitkisel ürünlerde doğal olarak bulunan ve bu gıdaların renk, tat, koku gibi çeşitli karakteristik özelliklerinden sorumlu olan fitokimyasallardır. Fenolik bileşikler, antioksidatif, antimikrobiyal, antienflamatuvar ve antiviral özellikler gibi biyolojik aktiviteye sahiptir (De La Rosa, Moreno-Escamilla, Rodrigo-García ve Alvarez-Parrilla, 2019). Algler, yaşamın temel mekanizmasında yer almadıkları için genellikle ikincil metabolitler olarak adlandırılan çok çeşitli ve fonksiyonel özellikte bileşikler üretirler. Bu bileşikler, genellikle organizmanın toplam biyokütlesinin çok küçük bir kısmına katkıda bulunsa da, hayatta kalmaya katkısı bazen birincil metabolizmadan kaynaklanan metabolitlerle karşılaştırılabilir düzeyde olabilmektedir (Ianora, Boersma, Casotti, Fontana, Harder, Hoffmann, Pavia, Potin,

Poulet ve Toth, 2006). Fenolik bileşikler kimyasal yapılarına göre fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, kumarinler, lignanlar, kinonlar, stilbenler ve kurkuminoidler gibi farklı alt gruplara ayrılmaktadır (De La Rosa ve diğerleri, 2019). Flavonoidler ve fenolik asitler gibi fenolik bileşikler yüksek antioksidan potansiyeline sahiptirler ve mikroalg türüne ve yetiştirme koşullarına göre bu bileşiklerin miktarları önemli ölçüde değişmektedir (De La Rosa ve diğerleri, 2019).

Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinde tanımlanan ve miktarları belirlenen fenolik bileşikler sırasıyla Tablo 4.3 ve 4.4'te, LC-ESI-MS/MS kromatogramları ise Şekil 4.11'de verilmiştir. *S. platensis* örneklerinde 24 fenolik bileşik tanımlanmış ve miktarları belirlenmiştir (Tablo 4. 3). Konsantrasyonları 73 ila 124 mg/100 g KA arasında değişmiş ve miktarları artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak önemli ölçüde azalmıştır ($p < 0,05$). Uygulanan tuz konsantrasyonları ile *S. platensis* örneklerinin kateşin türevi bileşikleri arasında pozitif ve orta düzeyde ($r = 0.44$) bir korelasyon (Şekil 4.9) ve diğer bileşikler için güçlü bir korelasyon gözlemlenmiştir.

.

Tablo 4.3. Farklı tuz konsantrasyonunda yetiştirilen *S. platensis* örneklerindeki fenolik bileşiklerin ve karotenoidlerin miktarları (mg/100 g KA)

Sıra	RT (dk)	Fenolik Bileşikler	^x [M-H] ⁻ / ^y [M+H] ⁺	MS ²	S20-C	S25	S30	S35
1	5,53	Kateşin türevi	289 ^x	245	8,07 ± 0,06 ^b	7,22 ± 0,20 ^a	7,17 ± 0,03 ^a	9,16 ± 0,17 ^c
2	7,97	5,7-Dihidroksi-3',4'-dimetoksiflavanon	315 ^x	283/245/215/195	1,34 ± 0,07 ^c	0,84 ± 0,02 ^b	0,57 ± 0,08 ^a	0,42 ± 0,06 ^a
3	9,56	İzoferulik asit	195 ^x	178/133/121	9,33 ± 0,08 ^d	4,90 ± 0,04 ^b	8,28 ± 0,02 ^c	3,67 ± 0,12 ^a
4	10,53	o-kumarik asit	165 ^y	147/123	5,67 ± 0,03 ^c	1,17 ± 0,03 ^b	0,69 ± 0,15 ^a	0,60 ± 0,12 ^a
5	10,64	4-Hidroksisinnamik asit	163 ^x	145/141/119	3,33 ± 0,02 ^c	2,21 ± 0,08 ^b	2,99 ± 0,25 ^c	1,57 ± 0,17 ^a
6	10,88	Kafeik asit türevi	179 ^x	135	4,12 ± 0,30 ^b	1,74 ± 0,62 ^a	1,95 ± 0,04 ^a	1,70 ± 0,02 ^a
7	11,49	Ferulik asit	195 ^y	177/145	2,35 ± 0,06 ^c	0,65 ± 0,06 ^a	0,84 ± 0,11 ^{ab}	0,92 ± 0,02 ^b
8	11,93	7'8-Dihidroksikumarin	178 ^y	117/109	6,47 ± 0,16 ^d	2,23 ± 0,00 ^c	0,50 ± 0,00 ^a	0,86 ± 0,00 ^b
9	14,09	Gallik asit	169 ^x	125	11,13 ± 0,11 ^c	9,95 ± 0,12 ^b	8,44 ± 0,03 ^a	9,80 ± 0,30 ^b
10	15,20	6-Metoks-7-hidroksikumarin	191 ^x	177/162/103	4,05 ± 0,53 ^b	2,14 ± 0,14 ^a	1,76 ± 0,11 ^a	3,33 ± 0,22 ^b
11	19,96	Floroglukinol	127 ^y	108	2,40 ± 0,01 ^b	2,22 ± 0,07 ^{ab}	1,96 ± 0,05 ^a	2,02 ± 0,20 ^a
12	20,09	Protokateşik asit	153 ^x	109	3,44 ± 0,10 ^c	2,66 ± 0,10 ^b	2,68 ± 0,14 ^b	2,00 ± 0,03 ^a
13	23,36	Kateşin gallat	441 ^x	291/245/220/195/160	4,59 ± 0,72 ^b	6,57 ± 0,21 ^c	1,74 ± 0,26 ^a	2,00 ± 0,35 ^a
14	26,78	p-hidroksibenzoik asit	137 ^x	109/93	5,97 ± 0,07 ^b	1,80 ± 0,41 ^a	2,96 ± 0,86 ^a	2,68 ± 0,12 ^a
15	27,88	Kateşin	289 ^x	245	6,29 ± 0,03 ^c	3,97 ± 0,00 ^b	3,39 ± 0,41 ^b	2,59 ± 0,16 ^a
16	28,00	Klorojenik asit	353 ^x	191	2,99 ± 0,04 ^b	1,23 ± 0,02 ^a	1,10 ± 0,03 ^a	1,06 ± 0,13 ^a
17	34,60	Vanilik asit	167 ^x	122	7,43 ± 0,13 ^c	6,19 ± 0,40 ^b	5,47 ± 0,11 ^b	3,03 ± 0,68 ^a
18	34,70	Kafeik asit	179 ^x	135	1,48 ± 0,05 ^c	0,92 ± 0,03 ^a	1,31 ± 0,00 ^b	1,23 ± 0,05 ^b
19	36,00	Epikateşin	289 ^x	245	8,73 ± 0,90 ^b	3,22 ± 0,94 ^{ab}	2,53 ± 0,47 ^a	5,55 ± 0,83 ^{ab}
20	47,17	Lutein	569 ^y	551/533/578/495/119/14 5/121	2,18 ± 0,05 ^c	0,54 ± 0,05 ^a	0,63 ± 0,06 ^a	1,02 ± 0,04 ^b
21	47,38	Karotenoid türevi	566 ^y	109	1,46 ± 0,02 ^c	1,23 ± 0,03 ^b	0,87 ± 0,02 ^a	0,84 ± 0,00 ^a
22	57,18	Kuersetin türevi	303 ^y	257/285	16,19 ± 0,13 ^b	18,08 ± 0,18 ^c	18,08 ± 0,35 ^c	13,38 ± 0,07 ^a
23	61,00	Kuersetin	549 ^x	463/301/161	5,11 ± 0,05 ^d	2,79 ± 0,00 ^a	3,32 ± 0,03 ^b	4,06 ± 0,14 ^c
24	62,89	Kaempferol	285 ^x	257/229/216	0,75 ± 0,04 ^c	0,33 ± 0,00 ^b	0,66 ± 0,04 ^c	0,17 ± 0,00 ^a
Toplam					124,87 ± 3,64 ^d	84,8 ± 3,75 ^c	79,89 ± 3,65 ^b	73,63 ± 4,00 ^a

Aynı satırdaki farklı harfler (a-d) istatistiksel farklılıkları gösterir (p<0,05). RT: Alıkonma süresi. x: Negatif iyon modu. y: Pozitif iyon modu.

Tablo 4.4. Farklı tuz konsantrasyonunda yetiştirilen *P. tricornutum* örneklerindeki fenolik bileşiklerin ve karotenoidlerin miktarları (mg/100 g KA)

Sıra	RT (dk)	Fenolik Bileşikler	^x [M-H] ⁻ / ^y [M+H] ⁺	MS ²	P15	P25	P30-C	P35
1	6,08	Kateşin izomeri	289 ^x	267/245/172/154	7,19 ± 0,17 ^b	10,48 ± 0,35 ^d	8,09 ± 0,07 ^c	5,54 ± 0,43 ^a
2	6,31	Dimetoksiflavon	281 ^x	267	29,90 ± 0,49 ^b	31,36 ± 0,22 ^c	31,49 ± 0,23 ^c	20,40 ± 0,28 ^a
3	8,10	Kuinik asit	190 ^x	85	7,75 ± 0,12 ^c	5,95 ± 0,07 ^b	5,38 ± 0,08 ^a	5,22 ± 0,14 ^a
4	10,61	Trans-sinamik asit	147 ^x	103	3,15 ± 0,13 ^c	1,72 ± 0,05 ^a	4,31 ± 0,10 ^d	2,33 ± 0,07 ^b
5	10,64	4-hidroksisinamik asit	163 ^x	145/141/119	5,00 ± 0,02 ^c	3,72 ± 0,17 ^b	5,56 ± 0,05 ^d	2,90 ± 0,07 ^a
6	10,72	Sinamik asit	147 ^x	103	8,44 ± 0,26 ^c	6,51 ± 0,00 ^a	8,83 ± 0,14 ^c	7,76 ± 0,29 ^b
7	11,88	Kuersetin-3-O-rutinosid	609 ^x	300	1,27 ± 0,01 ^a	2,10 ± 0,10 ^c	1,70 ± 0,03 ^b	1,51 ± 0,09 ^b
8	19,26	Floroglukinol	127 ^y	108	0,42 ± 0,00 ^b	0,34 ± 0,00 ^a	0,58 ± 0,03 ^c	0,31 ± 0,01 ^a
9	20,03	Protokateşuik asit	153 ^x	109	0,52 ± 0,02 ^a	0,70 ± 0,00 ^b	0,91 ± 0,05 ^c	0,47 ± 0,01 ^a
10	26,78	<i>p</i> -hidroksibenzoik asit	137 ^x	109/93	1,12 ± 0,03 ^c	0,54 ± 0,02 ^b	0,51 ± 0,05 ^b	0,20 ± 0,02 ^a
11	27,99	Kateşin	289 ^x	245	0,20 ± 0,02 ^a	0,27 ± 0,04 ^{ab}	0,53 ± 0,00 ^c	0,30 ± 0,04 ^b
12	28,50	Dihidroksi-dimetoksiflavon türevi	607 ^x	315	6,36 ± 0,00 ^a	8,15 ± 0,14 ^c	9,92 ± 0,02 ^d	7,09 ± 0,14 ^b
13	33,59	Vanillik asit	167 ^x	122	0,30 ± 0,05 ^b	0,27 ± 0,01 ^{ab}	0,40 ± 0,02 ^c	0,20 ± 0,02 ^a
14	34,71	Kafeik asit	179 ^x	135	0,29 ± 0,01 ^b	0,17 ± 0,05 ^a	0,34 ± 0,00 ^b	0,17 ± 0,01 ^a
15	37,16	Epikateşin	289 ^x	245	1,11 ± 0,03 ^c	0,72 ± 0,00 ^b	1,72 ± 0,01 ^d	0,59 ± 0,01 ^a
16	43,95	Kafeyl alkol	164 ^x	145/121/103	2,16 ± 0,00 ^a	2,36 ± 0,05 ^b	3,24 ± 0,05 ^d	2,62 ± 0,08 ^c
17	45,01	Kafeyl alkol türevi	164 ^x	103	0,24 ± 0,02 ^a	0,58 ± 0,07 ^c	0,86 ± 0,01 ^d	0,35 ± 0,03 ^b
18	47,17	Lutein	569 ^y	551/533/578/495/119/145/121	4,03 ± 0,05 ^a	4,39 ± 0,23 ^{ab}	5,21 ± 0,15 ^c	4,52 ± 0,02 ^b
19	50,19	Diatoksantin	566 ^y	331/341/360	4,92 ± 0,14 ^b	4,43 ± 0,14 ^a	6,19 ± 0,07 ^d	5,40 ± 0,08 ^c
20	62,89	Kaempferol	285 ^x	257/229/216	0,56 ± 0,00 ^b	1,49 ± 0,20 ^c	0,43 ± 0,00 ^a	0,40 ± 0,02 ^a
Toplam					84,93 ± 1,32^b	86,25 ± 1,91^c	96,99 ± 1,16^d	68,28 ± 1,54^a

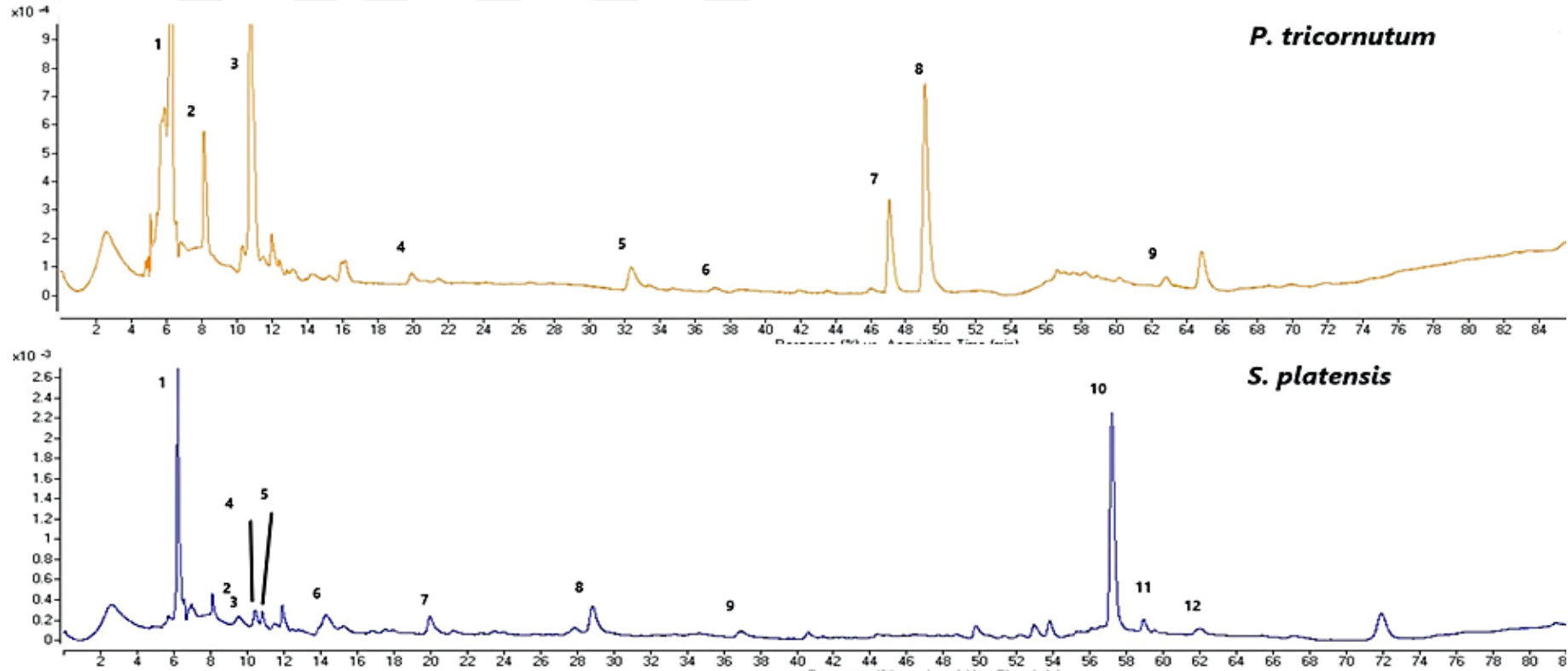
Aynı satırdaki farklı harfler (a-d) istatistiksel farklılıkları gösterir (p<0.05). x: Negatif iyon modu. y: Pozitif iyon modu. RT: Alıkonma süresi.

S. platensis örneklerinde baskın fenolik bileşiğin kuersetin türevi olduğu, gallik asit (LOD-LOQ: 1,89-6,30 g/mL, R^2 : 0,995), kateşin türevi bileşik, izoferulik asit (LOD-LOQ: 0,20-0,60 g/mL, R^2 : 0,995), *p*-hidroksibenzoik asit (LOD-LOQ: 0,04-0,12 g/mL, R^2 : 0,996), protokatekuik asit (LOD-LOQ: 0,02-0,07 g/mL, R^2 : 0,995), kateşin (LOD-LOQ: 0,11-0,37 g/mL, R^2 : 0, 995), vanilik asit (LOD-LOQ: 0,06-0,18 g/mL, R^2 : 0,995), epikateşin (LOD-LOQ: 0,13 0,42 g/mL, R^2 : 0,995)'nin de bol miktarda bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, 5,7-dihidroksi 3',4'-dimetoksiflavanon, *o*-kumarik asit (LOD-LOQ: 0,24-0,82 g/mL, R^2 : 0,995), 4-hidroksisinnamik asit, kafeik asit (LOD-LOQ: 0, 01-0,04 g/m, R^2 : 0,996) ve türevleri, ferulik asit (LOD-LOQ: 0,18-0,60 g/m, R^2 : 0,995), klorojenik asit (LOD-LOQ: 0,02-0, 07 g/mL, R^2 : 0,995), kafeik asit, epikateşin, phloroglucinol(LOD-LOQ: 0,32-0,44 g/mL, R^2 : 0,995), lutein (LOD-LOQ: 0,08-0,28 g/mL, R^2 : 0,995) karotenoid türevi, kuersetin ve kaempferol (LOD-LOQ: 0,05-0,17 g/mL, R^2 : 0,995) de *S. platensis* örneklerinde belirlenmiştir. Kuersetin miktarının 13 ila 18 mg/100 g KA arasında değiştiği ve S25 ve S30 kodlu örneklerde daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu bileşik, doğada yaygın olarak bulunan flavonoid yapısında bir bileşiktir ve bu bileşiğin anti-enflamatuvar, antihipertansif, antiobezite, antihiperkolesterolemik ve antiaterosklerotik aktivitelere sahip güçlü bir antioksidan olduğu bilinmektedir (Salvamani, Gunasekaran, Shaharuddin, Ahmad ve Shukor, 2014). *S. platensis* örneklerindeki gallik asit miktarı 8,44 ile 11,13 mg/100 g KA arasında değişirken, en yüksek içerik kontrol örneğinde (S20-C) tespit edilmiş ve mevcut çalışmada artan tuz içeriği gallik asit miktarında azalmaya neden olmuştur. Gallik asit (3,4,5-trihidroksi benzoik asit), renksiz veya hafif sarı kristal yapıya sahip bitkilerde en bol bulunan fenolik asitlerden biridir ve antioksidan, anti-enflamatuvar ve antineoplastik özellikleri nedeniyle gastrointestinal, nöropsikolojik, metabolik ve kardiyovasküler bozukluklarda terapötik aktivitelere ile gıda ve ilaç endüstrilerinde geniş uygulamalara sahiptir (Choubey, Varughese, Kumar ve Beniwal, 2015). *S. platensis* örneklerinde flavonoid grubu bileşiklerden kateşin miktarının 2,59 ile 6,29 mg/100 g arasında, epikateşin miktarının ise 2,53 ile 8,73 mg/100 g arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bu bileşikler S20-C kodlu örnekte en yüksek miktarlarda bulunmuş ve artan tuz konsantrasyonu miktarlarında önemli bir azalmaya yol açmıştır. Kateşinler bitkilerde bulunur ve yüksek antioksidan potansiyele sahip önemli ikincil metabolitlerdir (Esquivel-Hernández ve diğerleri, 2017). *S. platensis* örneklerinde vanilik asit (4-hidroksi-3-metoksibenzoik asit) miktarının 3,03 ila 7,43 mg/100 g arasında olduğu ve artan tuz konsantrasyonu ile azaldığı gözlenmiştir. Vanilik asit, kafeik asidin metabolik bir yan ürünüdür ve antioksidan, antikanser, anti-obezite, antidiyabetik, antibakteriyel ve anti-inflamatuvar etkileri ile önemli

faýdalara sahiptir. Floroglukinol ve kaempferol miktarı sırasıyla 1,96- 2,40 mg/100 g ve 0,17- 0,75 mg/100 g arasında değişmiş ve artan tuz konsantrasyonu miktarlarında azalmaya neden olmuştur. Literatürde *S. platensis* örneklerinde belirlenen fenolik bileşikler olarak *p*-hidroksibenzoik asit, protokateşuik asit, vanilik asit, gallik asit, siringik asit, 4-hidroksibenzaldehit, 3,4 dihidroksi benzaldehit, *o*- ve *p*-kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit, sinapik asit ve klorojenik asit belirtilmektedir (Klejdeus ve diğerleri, 2009; Goiris ve diğerleri, 2014; Seghiri ve diğerleri, 2019).

P. tricornutum örneklerinde 20 adet fenolik bileşik tanımlanmış ve miktarları belirlenmiştir (Tablo 4.4). Bu bileşiklerin miktarı 68 ile 96 mg/100 g KA arasında değişmiştir. Tuz konsantrasyonundaki değişimin toplam fenolik bileşiklerin miktarını önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır ($p < 0,05$). Uygulanan tuz konsantrasyonları ile *P. tricornutum* örneklerinin kuinik asit ($r = -0,97$) ve *p*-hidroksibenzoik asit ($r = -0,97$) arasında negatif yönlü ve güçlü bir korelasyon bulunurken (Şekil 4.10), kateşin ($r = 0,54$), kafeyl alkol ($r = 0,65$) ve luteolin ($r = 0,64$) için pozitif yönlü ve orta düzeyli korelasyon belirlenmiştir (Şekil 4.10). En baskın fenolik bileşik dimetoksiflavon iken, *trans*-sinnamik asit (LOD- LOQ: 0,08-0,23 g/mL, R^2 : 0,996), 4-hidroksisinnamik asit, sinnamik asit, dihidroksi-dimetoksiflavon, türevi, lutein ve diatoksantin de *P. tricornutum* örneklerinde bol miktarda bulunmuştur. Ayrıca, floroglukinol (LOD-LOQ: 0,32-0,44 g/mL, R^2 : 0,995), protokateşik asit (LOD-LOQ: 0,02-0,07 g/mL, R^2 : 0,995), *p*- hidroksibenzoik asit (LOD-LOQ: 0,04-0,12 g/mL, R^2 : 0,996), kateşin (LOD-LOQ: 0,11-0,37 g/mL, R^2 : 0, 995), vanilik asit (LOD-LOQ: 0,06-0,18 g/mL, R^2 : 0,995), kafeik asit, epikateşin (LOD- LOQ: 0,13-0,47 g/mL, R^2 : 0,995), kafeoil alkol ve türevleri ve kaempferol (LOD- LOQ: 0,05-0,17 g/mL, R^2 : 0,995) *P. tricornutum* örneklerinde belirlenmiştir. Çoklu biyolojik aktiviteleri nedeniyle dimetoksiflavon ve türevleri son zamanlarda büyük ilgi görmektedir. Bu çalışmada dimetoksiflavon ve türevleri miktarının 20,40 ile 31,49 mg/100 g KA arasında değiştiği ve kontrol grubunda en yüksek düzeylerde olduğu belirlenmiştir. Yetiştirme ortamındaki tuz miktarındaki değişim dimetoksiflavon miktarında da değişime neden olmuştur. Sinnamik asit (LOD- LOQ: 0,06-0,18 g/mL, R^2 : 0,995) ve kafeik asit (LOD- LOQ: 0,02, 0,04 g/mL, R^2 : 0,996) dokuz karbon atomu içeren hidroksisinnamik asit grubunda yer almaktadır (Min, Shen, Xi, Wang, Yin, Zhang ve Wang, 2018) ve mevcut çalışmada miktarları 6,51 ila 8,83 mg/100g KA arasında değişmiştir. Sinnamik asit ve kafeik asidin antikanser, antioksidan, antibakteriyel, anti-enflamatuar ve antidiyabetik aktivitelere sahip olduğu birçok çalışmada bildirilmiştir (Min ve diğerleri, 2018). Karotenoid vitamin olarak

bilinen ve yağ asitleri ile kovalent bağlara sahip olan lutein (LOD-LOQ: 0,08-0,28 g/mL, R^2 : 0,995), bitkiler, bakteriler, algler, mayalar, bitkiler vb. dahil olmak üzere birçok organizmada bulunan sarı renkli organik bir bileşiktir (Ochoa Becerra, Mojica Contreras, Hsieh Lo, Mateos Díaz ve Castillo Herrera 2020). Mikroalgler, yüksek lutein içerikleri ve biyokütle verimlilikleri nedeniyle karotenoid için potansiyel bir alternatif haline gelmiştir (Fernández-Sevilla, Acién Fernández ve Molina Grima, 2010). Bu çalışmada lutein miktarının 4,03 ile 5,21 mg/100 g arasında değiştiği ve kontrol gruplarında daha yüksek olduğu ve tuz konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Diatoksantin ise fitoplankton ve diatomlarda bulunan bir ksantofil türüdür ve miktarı 4,43-6,19 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Bu bileşik antioksidan, antikanser, anti-inflamatuvar, anti-obezite ve nöroprotektif gibi faydalı aktiviteleri nedeniyle gıda, kozmetik ve ilaç endüstrileri için büyük öneme sahiptir (Rico ve diğerleri, 2012). Genel olarak *S. platensis* örneklerinin *P. tricornutum* örneklerine kıyasla daha yüksek fenolik potansiyele sahip olduğu, ancak artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak miktarlarında azalmaların olduğu saptanmıştır (Tablo 4.3 ve 4.4). Korelasyon analizi ile ilgili olarak, tuz konsantrasyonu ile *P. tricornutum* ve *S. platensis* örneklerinin fenolik bileşikleri arasında güçlü bir korelasyon gözlenmiştir (Şekil 4.9 ve 4.10).



Şekil 4.11. *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinden elde edilen fenolik bileşiklerin LC-DAD-ESI-MS/MS kromatogramları (*S.platensis* örnekleri (altta); 1: kateşin türevi, 2: izoferulik asit, 3: o-kumarik asit, 4: kafeik asit türevi, 5: ferulik asit, 6: gallik asit, 7: protokateşik asit, 8: klorojenik asit, 9: epikateşin, 10: kuersetin türevi, 11: kuersetin ve 12: kaemferol. *P. tricornutum* örnekleri (üstte); 1: dimetoksiflavon, 2: kuinik asit, 3: sinamik asit, 4: protokateşik asit, 5: vanilik asit, 6: epikateşin, 7: lutein, 8: diatoksantin, ve 9: kaemferol (pikler Tablo 4.3 ve 4.4'teki bileşiklere karşılık gelmektedir).

4.2.7. HPLC-PDA-RID ile belirlenen organik asitlerin ve şeker sonuçları

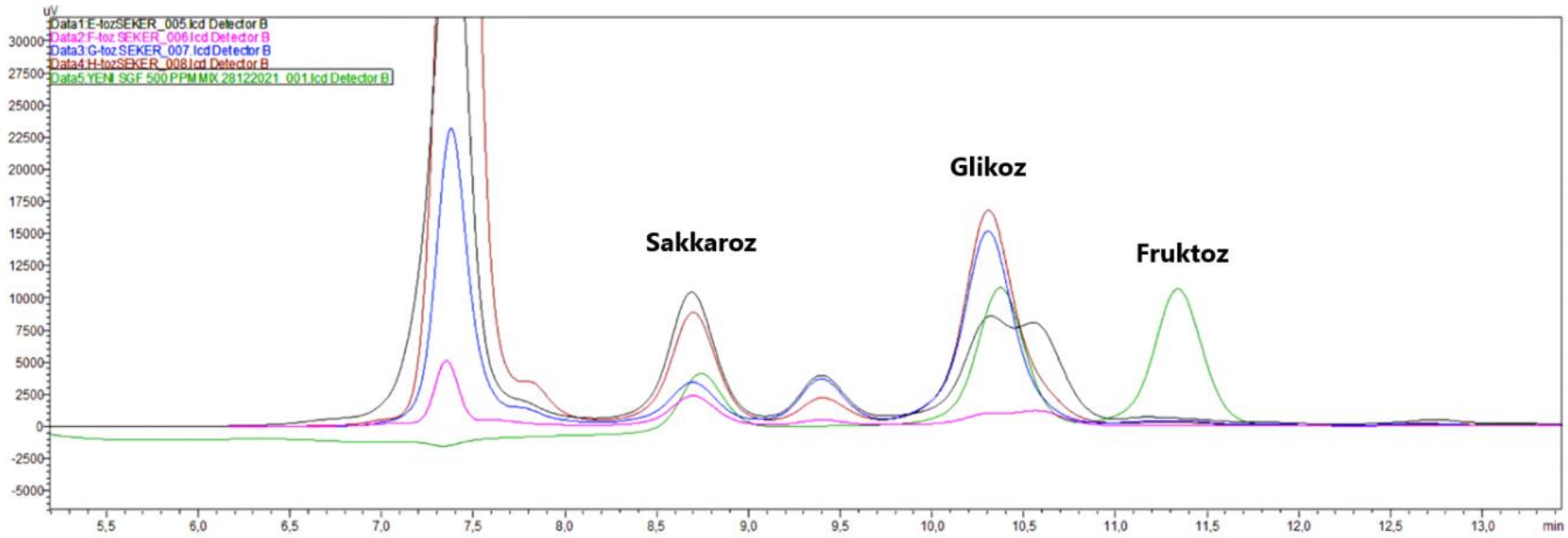
4.2.7.1. Organik asitler

Bitkilerin yapısında bulunan organik asitlerin çoğu serbest halde, organik asit tuzları veya esterleri şeklinde bulunmaktadır. Organik asitler, yapılarında bulunan karboksil (COOH) grubu nedeniyle karboksillik asitler olarak da isimlendirilmektedir. Gıdalarda bulunan organik asitlerin; aroma, tat, renk, parlaklık, stabilite ve kaliteyi korumada etkili olduğu bilinmektedir. Hayvansal ve bitkisel organizmalarda, doğada saf olarak bulundukları gibi, doğal yollardan da elde edilebilmektedirler (Gurtler ve Mai, 2014). Fumarik asit, laktik asit, asetik asit fermentasyon sonucu oluşan organik asitlerken, askorbik asit, sitrik asit ve malik asit meyve asitleri olarak sınıflandırılmaktadır. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen *S. platensis* ve *P. tricornutum* örnekleri organik asitler açısından HPLC-PDA sistemi ile analiz edilmiş ve bulgular Tablo 4.5'te verilmiştir.

S. platensis ve *P. tricornutum* örneklerindeki organik asitlerin toplam miktarı sırasıyla 4155-8993 mg/100g KA ve 6605-8206 mg/100 g KA arasında değişmiştir. *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinde en baskın organik asit sırasıyla 7442,73 mg/100 g KA ve 7584,74 mg/100 g KA miktarlarıyla asetik asit olmuştur. En yüksek asetik asit içeriği kontrol gruplarında (S20-C ve P30-C) gözlenmiştir. Çalışmada ayrıca, α -ketoglutarik, sitrik, malik, askorbik, süksinik ve asetik asitler tanımlanmış ve miktarları belirlenmiştir (Tablo 4.5). Asetik asit sonrasında, α -ketoglutarik, sitrik ve süksinik asit her iki türde de yüksek miktarlarda belirlenmiştir. Alanin, glutamin ve glutamik asit oluşumunda etkili olan α -ketoglutarik asit, birçok bitkide serbest ve/veya türevleri halinde bulunmaktadır (Asadi Shahmirzadi, Edgar, Liao, Hsu, Lucanic, Asadi Shahmirzadi ve Lithgow, 2020). Tuz konsantrasyonundaki değişimlerin toplam organik asit miktarını değiştirdiği gözlemlenmiştir. Literatürde *S. platensis* ve *P. tricornutum* kültürlerinde tuz konsantrasyonunun organik asit kompozisyonunu nasıl değiştirdiğine dair bir çalışma bulunmadığından, bitkilerin yetiştirilmesi sırasında tuz konsantrasyonunun etkisi incelenmiş ve tuz konsantrasyonuna bağlı olarak organik asit miktarının azaldığı belirlenmiş ve yüksek tuz seviyelerinin bitki hücrelerinde iyonik ve ozmotik strese neden olarak hücre zarı yapılarını bozduğu belirtilmiştir (Wang ve Arntfield, 2017). Bu çalışma sonuçlarının genel değerlendirmesinde artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak organik asit içeriklerinin azaldığı ve *P. tricornutum*'un *S. platensis*'ten daha yüksek miktarda organik içerdiği saptanmıştır.

4.2.7.2. Şeker profili

Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen ve dondurularak kurutulmuş *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin HPLC-RID ile belirlenen şeker bileşimleri Tablo 4.5 ve kromatogramları Şekil 4.12’de verilmiştir. Her iki türün örneklerinde sakkaroz, glikoz ve fruktoz bileşikleri belirlenmiş ve tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak bileşimlerinde önemli farklılıkların olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Toplam şeker içeriği *S. platensis* örnekleri için 2200-3542 mg/100 g KA ve *P. tricornutum* için ise 406-482 mg/100 g KA arasında değişmiştir. Baskın şeker *S. platensis* için glikoz ve *P. tricornutum* için sakkaroz olarak belirlenmiştir. Şeker içeriklerinin genel olarak kontrol gruplarında daha yüksek olduğu ve tuz miktarının *S. platensis* ve *P. tricornutum*’un şeker içeriğini azalttığı, *S. platensis* örneklerinin ise *P. tricornutum* örneklerinden daha yüksek şeker içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. *P. tricornutum* örnekleri için, kontrol seviyesinin üzerindeki veya altındaki tuz konsantrasyonları toplam şeker içeriğinde azalmaya yol açmıştır. Özellikle, sakkaroz içeriğinde önemli bir fark bulunmuştur. En yüksek glikoz ve fruktoz içeriği P25 numunesinde gözlenmiştir. *S. platensis* kültürlerinde, kontrol örnekleri (S20-C) baskın şeker glikoz iken, *P. tricornutum* örneklerinde sakkaroz baskın şeker olarak belirlenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla daha yüksek tuz içeriği şeker profilinde ve toplam şekerde düşüşe yol açmıştır. *S. platensis* üzerinde daha önce yapılan bir çalışmada toplam şeker 309 ila 1221 mg/100 g arasında değişmiş ve glikoz, fruktoz, galaktoz, ramnoz, ksiloz ve riboz bileşikleri tanımlanmıştır (Al-Dhabi ve Valan Arasu, 2016). Bu çalışmadaki *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinde tuz konsantrasyonları, organik asit ve şeker içerikleri arasında sırasıyla negatif ve güçlü ($r = -0,85$) ve pozitif ve orta düzeyde ($r = 0,10$ ve $0,60$) korelasyonlar gözlenmiştir (Şekil 4.5). Tuzun bu iki türün şeker içeriği üzerindeki etkisine dair daha önce yapılmış bir çalışma bulunmadığından, bitkiler üzerinde yapılan çalışmalar incelenmiştir. Tuz stresi altında Na^{+} ’un apoplastta yüksek konsantrasyonda biriktiği ve hücre duvarı yapısındaki pektin gibi yapısal elemanların iyonik bağlantılarını bozarak hücre duvarının temel işlevlerini yerine getirmesini engellediği ve şeker miktarını azalttığı belirlenmiştir (Amirul Alam ve diğerleri, 2015).



Şekil 4.12. *S. platensis* ve *P. tricornutum* kültürlerinin şeker kromatogramı

Tablo 4.5. Farklı tuz konsantrasyonlarında (15-35%) yetiştirilen ve dondurularak kurutulmuş *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin organik asit ve şeker kompozisyonları

		<i>S. platensis</i>				<i>P. tricornutum</i>			
		S20-C	S25	S30	S35	P15	P25	P30-C	P35
Organik Asitler (mg/100g KA)	α -ketoglutarik asit	645,53 $\pm$ 3,61 ^{CH}	397,21 $\pm$ 2,12 ^{bg}	85,87 $\pm$ 2,82 ^{aA}	215,04 $\pm$ 2,75 ^{abC}	226,29 $\pm$ 0,70 ^{bD}	113,86 $\pm$ 0,86 ^{aB}	246,60 $\pm$ 1,41 ^{cE}	342,13 $\pm$ 0,70 ^{dF}
	Sitrik asit	67,87 $\pm$ 1,65 ^{dE}	36,06 $\pm$ 0,70 ^{bB}	48,74 $\pm$ 0,28 ^{cC}	10,52 $\pm$ 0,70 ^{aA}	125,77 $\pm$ 1,41 ^{cG}	55,75 $\pm$ 1,86 ^{aD}	162,35 $\pm$ 2,82 ^{dH}	96,22 $\pm$ 0,70 ^{bF}
	Malik asit	107,09 $\pm$ 2,82 ^{cD}	59,49 $\pm$ 0,63 ^{aB}	67,15 $\pm$ 1,41 ^{bC}	67,73 $\pm$ 0,35 ^{bC}	te	te	17,51 $\pm$ 1,41 ^{aA}	te
	Askorbik asit	te	te	te	te	7,22 $\pm$ 0,14 ^{bB}	5,13 $\pm$ 0,35 ^{aA}	9,43 $\pm$ 0,13 ^{cC}	11,21 $\pm$ 0,70 ^{dD}
	Süksinik asit	730,41 $\pm$ 8,41 ^{cG}	41,85 $\pm$ 1,39 ^{aC}	41,21 $\pm$ 0,70 ^{aC}	51,18 $\pm$ 0,35 ^{bD}	36,23 $\pm$ 0,48 ^{bB}	29,05 $\pm$ 0,86 ^{aA}	186,03 $\pm$ 1,51 ^{dF}	61,09 $\pm$ 1,43 ^{cE}
	Asetik asit	7442,73 $\pm$ 1,96 ^{dF}	3620,96 $\pm$ 0,70 ^{aA}	6903,18 $\pm$ 3,53 ^{bC}	7122,25 $\pm$ 2,21 ^{cD}	7474,06 $\pm$ 0,41 ^{cF}	6401,60 $\pm$ 1,41 ^{aB}	7584,84 $\pm$ 2,12 ^{dG}	7365,07 $\pm$ 7,07 ^{bE}
	Toplam	8993,7$\pm$18,50^{aH}	4155,6$\pm$5,50^{bA}	7146,2$\pm$8,75^{cC}	7466,7$\pm$6,40^{dD}	7869,6$\pm$4,90^{cF}	6605,4$\pm$5,40^{aB}	8206,7$\pm$7,7^{dG}	7875,7$\pm$10,6^{bE}
Şekerler (mg/100g KA)	Sakkaroz	1099,60 $\pm$ 0 ^{dH}	1064,16 $\pm$ 0 ^{cG}	398,25 $\pm$ 0 ^{aE}	923,40 $\pm$ 0 ^{bF}	172,41 $\pm$ 0,70 ^{aB}	168,65 $\pm$ 0,21 ^{dA}	229,58 $\pm$ 0 ^{cD}	209,93 $\pm$ 0,01 ^{bC}
	Glikoz	2322,13 $\pm$ 0 ^{dH}	2222,69 $\pm$ 0 ^{cG}	1727,64 $\pm$ 0,01 ^{aE}	1993,25 $\pm$ 0,01 ^{bF}	164,20 $\pm$ 0 ^{bA}	192,48 $\pm$ 0,04 ^{cD}	169,60 $\pm$ 0 ^{aB}	173,86 $\pm$ 0 ^{dC}
	Fruktoz	121,10 $\pm$ 0 ^{dH}	106,82 $\pm$ 0 ^{cG}	74,81 $\pm$ 0,03 ^{bD}	56,58 $\pm$ 0 ^{aA}	69,75 $\pm$ 0 ^{bB}	92,70 $\pm$ 0,07 ^{dF}	83,17 $\pm$ 0 ^{cE}	71,23 $\pm$ 0 ^{fC}
	Toplam	3542,8$\pm$0^{dH}	3393,7$\pm$0^{cG}	2200,7$\pm$0,04^{aE}	2973,2$\pm$0^{bF}	406,4$\pm$0,20^{aA}	453,8$\pm$0,30^{bB}	482,4$\pm$0^{dD}	454,80$\pm$0^{cC}

Aynı satırdaki farklı harfler (a-b, A-H) istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0,05)

**(a-d): İstatistiksel analiz *S. platensis* ve *P. tricornutum* için ayrı ayrı uygulanmıştır. **(A-H): *S. platensis* ve *P. tricornutum* arasındaki istatistiksel farkı ifade eder.te: Tespit edilememiştir

4.2.8. GC-FID ve GC/MS ile belirlenen uçucu bileşenlerin sonuçları

Sucul ekosistemlerde algler, ışık, sıcaklık, beslenme koşulları ve abiyotik stresler gibi çeşitli çevresel faktörlerin etkisiyle terpen bileşikler, furanlar, sülfür bileşikler, alkanlar, alkenler, alkoller, aldehitler, ketonlar ve esterler dahil olmak üzere geniş bir yelpazede uçucu organik bileşikler üretmektedir (Zuo, 2019). Mikroalgler doğal olarak alkoller, esterler, karboniller, terpenler ve aldehitler gibi uçucu bileşikler üretir. Gıda endüstrisinde bu kimyasallar aroma verici katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır. Mikroalgler, ılıman ortamlarda üretilmeleri ve toksik atık oluşturmamaları nedeniyle aroma üretimi için uygun bir alternatiftir (Fradique, Batista, Nunes, Gouveia, Bandarra ve Raymundo, 2010). *S. platensis*'e ait uçucu bileşikler ve miktarları ($\mu\text{g/kg}$) Tablo 4.6' da, uçucu bileşikler ait kromatogramlar ise Şekil 4.13' te verilmiştir. *S. platensis* örnekleri ile ilgili olarak, alkoller, eterler, ketonlar, azot bileşikler, hidrokarbonlar, karboksilik asitler, alkaloidler ve aromatik hidrokarbonlar dahil olmak üzere toplam 41 uçucu bileşik saptanmıştır (Tablo 4.6). Toplam uçucu bileşik miktarı 19783 ile 71744 $\mu\text{g/kg}$ arasında değişmiş ve tuz konsantrasyonundaki artışın uçucu bileşiklerin miktarının arttırdığı görülmüştür ($p<0.05$). En baskın uçucu bileşiğin bir hidrokarbon olan heptadekan olarak belirlenmiş, bunu pentadekan ve hekzadekan izlemiştir. Heptadekan, pentadekan ve hekzadekan *S. platensis* örneklerinde yüksek eşik ve konsantrasyonlarda bulunmuştur. Bu bileşiklerin aroması genellikle yüksek konsantrasyonlarda veya uzun süreli maruziyette tespit edilebilir hale gelmektedir. Bunlara ek olarak, bir keton ve aromatik hidrokarbon olan 2-oktanon ve asetofenon da yüksek miktarlarda bulunmuştur. *P. tricornutum* örneklerinde ise alkoller, eterler, esterler, ketonlar, azotlu bileşikler, hidrokarbonlar, karboksilik asitler, aldehitler ve aromatik hidrokarbonlar dahil olmak üzere toplam 34 uçucu bileşik tespit edilmiş ve miktarları belirlenmiştir (Tablo 4.7). Örneklerdeki uçucu bileşiklerin toplam miktarları 533-843 $\mu\text{g/kg}$ arasında değişmiş ve tuz konsantrasyonunun azaltılmasının toplam uçucu bileşik miktarını arttırdığı belirlenmiştir ($p<0.05$). *P. tricornutum* örneklerinde en baskın uçucu bileşiğin keskin bir kokuya sahip asetik asit olduğu ve tuz içeriğindeki değişimin bu bileşiğin miktarında önemli değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir. Asetik asit, *P. tricornutum*'da düşük eşik değerleri ve yüksek konsantrasyonları ile tipik bir ekşi ve keskin aromanın temsilcisi olarak bilinmektedir (Gao, Feng, Liu, Shan, Zhang, Liao ve Ma, 2020).

Tablo 4.6. Farklı tuz konsantrasyonlarında (20-35‰) yetiştirilen *S. platensis*'in uçucu bileşikleri (µg/kg)

Kimyasal Gruplar	LRI	Uçucu Bileşikler	S20-C	S25	S30	S35
Alkoller	756	Siklobutanol	18,02±0,14 ^a	70,34±0,23 ^d	42,23 ±5,80 ^c	29,57±0,78 ^b
	1499	2-etil-1-hekzanol	75,82±5,18 ^b	226,80±8,72 ^d	176,04±3,21 ^c	59,32±1,56 ^a
	1885	Benzil alkol	59,44±4,73 ^a	103,82±3,64 ^c	83,18±1,33 ^b	50,10±1,32 ^a
	1923	Feniletil alkol	28,49±2,06 ^a	167,10±7,89 ^d	73,26±1,25 ^c	46,06±1,21 ^b
Aldehitler		Toplam	181,80±2,10^a	568,10±20,50^c	395,20±11,60^b	185,10±4,90^a
	1277	o-Nitrobenzaldehit	13,74±0,13 ^a	30,75±0,27 ^d	20,51±0,60 ^c	18,53±0,69 ^b
	979	Pentanal	26,41±1,87 ^a	103,41±3,52 ^d	80,03±0,90 ^c	69,21±1,83 ^b
		Toplam	40,20±2,00^a	134,20±3,08^d	100,50±1,50^c	87,70±2,50^b
Karboksilik Asitler	1480	Asetik asit	109,56±2,83 ^d	67,67±2,79 ^b	88,80±6,51 ^c	36,71±0,97 ^a
		Toplam	109,60±2,80^d	67,70±2,80^b	88,80±6,50^c	36,70±0,90^a
Eterler	680	2-(4-metoksifenil)-1,3-dioksolan	33,42±2,49 ^a	85,83±1,03 ^c	80,09±1,26 ^b	79,08±2,09 ^b
	900	1,1-dietoksi-etan	35,39±2,23 ^a	103,40±3,02 ^c	74,50±1,32 ^b	79,93±2,11 ^b
		Toplam	68,80±4,70^a	189,20±4,10^c	154,60±2,60^b	159,00±4,20^b
Ketonlar	1283	2-Oktanon	2789,83±2,34 ^a	5328,98±1,10 ^b	5254,98±1,82 ^b	7470,99±1,97 ^c
	1303	4-Okten-3-on	41,05±0,29 ^b	162,11±3,89 ^c	196,97±5,47 ^d	20,99±0,55 ^a
		Toplam	2830,90±2,60^a	5991,10±5,00^c	5452,00±7,30^b	7492,00±2,50^d
Esterler	1441	Etil oktanoat	te	1274,57±14,10 ^c	386,25±9,86 ^b	101,93±2,69 ^a
		Toplam	te	1274,60±14,10^c	386,30±9,90^b	101,90±2,70^a
Hidrokarbonlar	1454	1-Tetradecene	te	277,33±1,27 ^b	126,38±5,01 ^a	161,89±4,28 ^a
	256	Pentadekan	1486,46±12,24 ^a	7071,72±3,08 ^d	4708,18±0,21 ^c	3975,40±10,51 ^b
	1811	(5E)-5-Oktadeken	114,81±8,26 ^a	426,85±1,70 ^b	169,93±3,11 ^a	232,40±6,14 ^{ab}
	268	Hekzadekan	538,25±4,14 ^a	2547,94±11,30 ^c	1455,85±27,84 ^b	1311,52±34,68 ^b
	900	1-metil-1-(1-metiletil)-2-nonil-Siklopropan	116,03±9,49 ^a	437,52±5,60 ^c	106,69±1,33 ^a	159,20±4,21 ^b
	1624	cis-3-hekzadeken	159,91±1,26 ^a	577,28±1,57 ^b	179,88±3,34 ^{ab}	225,88±5,97 ^{ab}
	1880	Siklohekzadekan	241,40±2,09 ^a	1157,55±10,37 ^c	246,15±1,38 ^a	384,48±1,01 ^b
	1680	6-Aza-5,7,12,14-tetrathiapentacene	866,84±8,19 ^b	5993,26±30,38 ^c	394,02±7,37 ^a	714,12±1,88 ^b
	1695	Heptadekan	10682,76±73,46 ^a	36941,22±94,62 ^c	30072,92±56,85 ^c	28064,08±74,21 ^b
	1705	8-Heptadecene	820,49±5,71 ^a	2258,61±34,00 ^b	2126,46±40,25 ^b	2084,03±55,11 ^b
		Toplam	15027,00±124,90^a	57689,30±193,90^d	39586,50±146,70^c	37313,00±196,00^b
Aromatik Hidrokarbonlar	1652	Asetofenon	524,47±4,88 ^a	4559,18±13,30 ^b	346,37±6,34 ^a	309,65±8,18 ^a
		Toplam	524,50±4,90^a	4559,20±13,30^b	346,40±6,30^a	309,70±8,20^a
Fenoller	2008	Fenol	45,83±3,52 ^a	139,18±3,64 ^d	79,22±1,16 ^b	91,02±2,40 ^c
		Toplam	45,80±3,50^a	139,20±3,06^d	79,20±1,20^b	91,00±2,40^c

Tablo 4.6. Farklı tuz konsantrasyonlarında (20-35%) yetiştirilen *S. platensis*'in uçucu bileşikleri (µg/kg) (devam)

Kimyasal gruplar	LRI	Uçucu Bileşikler	S20-C	S25	S30	S35
<i>Diğer bileşikler</i>	1804	<i>o</i> -Metoksibenzoik asit, 3,5-diflorofenil ester	53,18±4,60 ^a	235,34±6,49 ^b	81,46±4,05 ^{ab}	49,11±1,29 ^a
	1724	3-Amino-1-fenilbütan	30,02±2,08 ^a	90,95±3,49 ^c	50,05±1,19 ^b	31,41±0,83 ^a
	1489	3-Amino-2-etil-bütirik asit	14,73±1,00 ^a	39,76±1,43 ^{cb}	40,92±5,16 ^c	29,65±0,78 ^b
	1490	(±)-2-Amino-1-metoksipropan	11,26±0,58 ^a	40,47±1,85 ^c	28,45±7,50 ^b	27,43±0,72 ^b
	1756	2-(4-metoksifenil)-1,3-dioksolan	33,42±2,49 ^a	85,83±1,03 ^c	80,09±1,26 ^b	79,08±2,09 ^b
	1775	Etoksi(okso)asetik asit	28,37±2,26 ^b	te	18,57±1,44 ^a	567,53±1,50 ^c
	1780	β-(Metilamino)etanol	342,56±3,37 ^b	te	108,33±8,07 ^a	te
	1417	2-Metiltiyosiklododeka[c]tiyofen	29,30±2,11 ^a	79,77±1,99 ^c	48,35±1,14 ^b	51,99±1,37 ^b
	1820	3-hidroksikarbonil-2,5-dimetilpirolidin	33,77±2,64 ^a	109,12±4,27 ^c	39,73±6,98 ^a	57,99±1,53 ^b
	1650	4-Ftalimidobenzoik asit	25,06±2,12 ^b	te	17,01±1,79 ^a	54,97±1,44 ^c
	1684	1,1-Bis[4-(dimetilamino)fenil]-5-(dimetilamino)-izobenzofuran-3-on	17,25±1,22 ^a	te	21,53±4,38 ^b	te
	1232	4-Amino-1-pentanol	28,47±2,01 ^a	te	44,63±7,87 ^b	te
	1669	6(E),8(E)-Heptadekadien	157,40±1,26 ^a	501,17±3,05 ^b	314,61±5,94 ^{ab}	285,83±7,55 ^{ab}
	1696	4-[2-(metilamino)etil]- fenol	73,38±5,88 ^a	te	114,44±2,88 ^{ab}	152,82±4,04 ^b
	1790	2-[2-Metil-2-aminoetil]benzofuran	30,84±2,21 ^a	269,22±1,92 ^c	73,50±8,63 ^b	73,82±1,95 ^b
	2017	5-(2-Aminopropil)-2-metilfenol	4,30±0,35 ^a	25,24±0,61 ^b	18,60±0,40 ^{ab}	13,52±0,35 ^{ab}
	2029	2,4-Dimetilkinolin	58,80±4,38 ^a	155,13±5,62 ^b	75,64±4,34 ^{ab}	59,28±1,56 ^a
		Toplam	972,10±40,60^a	1632,00±31,80^d	1175,90±73,00^b	1534,40±27,00^c
		Genel Toplam	19783,30±201,50^a	71744,40±292,80^c	47762,60±262,90^b	47310,50±249,40^b

Aynı satırdaki farklı harfler (a-d) istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0,05)

LRI: DB-WAX kapiler kolon üzerinde hesaplanan doğrusal alıkonma indeksi

te: Tespit edilmedi

Kimyasal Gruplar	LRI	Uçucu Bileşikler	P15	P25	P30-C	P35
Azotlu Bileşikler	1391	Piperazin	13,68±0,92 ^a	12,53±0,87 ^b	16,36±1,18 ^b	14,73±5,03 ^a
Alkoller	1648	Siklobutanol	12,85±1,53 ^b	10,14±0,01 ^{ab}	19,62±4,60 ^c	7,18±1,98 ^a
	1820	α -feniletanol	4,03±0,22 ^b	2,34±0 ^a	5,17±0,07 ^c	3,57±0,03 ^b
	1649	Siklopropil karbinol	8,78±1,27 ^c	6,20±3,63 ^b	10,65±0,53 ^d	5,22±3,72 ^a

Tablo 4.7. Farklı tuz konsantrasyonlarında (15-35%) yetiştirilen *P. tricornutum*'un uçucu bileşikleri (µg/kg)

Karboksilik Asitler	1480	Toplam	39,4±3,7^c	34,9±4,5^b	48,8±6,4^d	30,7±3,7^a
	1647	Asetik asit	109,90±8,39 ^a	111,51±6,47 ^a	113,59±1,39 ^a	111,66±7,64 ^a
	2508	Bütanoik asit	12,16±1,21 ^a	15,48±1,28 ^b	18,30±0,79 ^c	14,79±5,05 ^b
	1883	Dodekanoik asit	16,40±0,40 ^c	11,18±0,98 ^a	14,71±0,16 ^b	16,52±0,39 ^c
	954	Evoninik asit	3,31±1,56 ^a	nd	4,04±1,18 ^a	nd
Aldehitler		β-aminobütirik asit	2,80±0,18 ^c	1,80±0,33 ^b	2,70±1,61 ^c	0,70±0 ^a
		Toplam	114,6±11,7^a	139,9±9,1^b	153,3±5,1^d	143,7±3,1^c
	984	Pentanal	5,69±0,24 ^b	5,25±0,98 ^b	4,05±0,39 ^a	3,14±0,78 ^a
	1529	Benzaldehit	81,47±5,94 ^c	29,78±1,60 ^b	25,54±1,04 ^a	17,93±4,07 ^a
	1188	Heptanal	40,63±2,41 ^c	39,22±2,00 ^b	59,13±0,94 ^d	26,11±1,09 ^a
Eterler		Toplam	127,8±8,6^d	74,3±4,6^b	88,7±2,4^c	47,2±6,0^a
	2055	Fenil eter	15,97±0,58 ^b	12,96±0,45 ^{ab}	11,90±0,41 ^a	11,80±3,36 ^a
		Toplam	16,0±0,6^b	13,0±0,5^{ab}	11,9±0,4^a	11,8±3,4^a
Ketonlar	1283	2-oktanon	38,69±2,77 ^b	39,60±1,07 ^b	50,29±6,69 ^c	18,56±1,62 ^a
	1303	4-okten-3-on	12,02±1,83 ^b	11,87±1,32 ^b	18,68±1,47 ^c	8,60±1,54 ^a
		Toplam	50,7±4,6^b	51,5±2,39^b	69,0±8,1^c	27,2±3,6^a
Esterler	1194	Etil 2-butenolat	16,87±3,50 ^b	16,90±0,26 ^b	18,60±2,15 ^c	12,55±1,26 ^a
	1524	Etil β-hidroksibütirat	52,32±3,92 ^c	39,43±2,93 ^a	66,47±0,81 ^d	43,73±8,04 ^b
		Toplam	69,2±7,4^b	56,3±3,2^a	85,1±2,9^c	56,3±9,3^a
Hidrokarbonlar	1161	6-(1Z,3-butadienil)-1,4-sikloheptadien	15,67±0,90 ^c	10,21±2,55 ^a	19,79±0,13 ^d	12,10±0,73 ^b
Aromatik hidrokarbonlar		Toplam	15,7±0,9^c	10,2±2,6^a	19,8±0,1^d	12,1±0,7^b
	1652	Asetofenon	41,25±1,10 ^a	80,36±0,11 ^c	97,17±1,51 ^d	63,93±1,23 ^b
		Toplam	41,3±1,1^a	80,4±0,1^c	97,2±1,5^d	63,9±1,2^b
Diğer bileşikler	1536	Siklopentanedekol	9,01±1,48 ^c	6,03±0,03 ^a	10,87±1,79 ^d	7,18±1,67 ^b
	1650	1,2-Metilaminolaurik asit	4,52±0,58 ^b	4,55±0,40 ^b	6,58±0,34 ^c	2,89±0,36 ^a
	2195	α-(1-aminoetil)-benzenemetanol	4,60±0,42 ^b	4,78±0,22 ^b	6,80±0,01 ^c	1,97±0,53 ^a

Tablo 4.7. Farklı tuz konsantrasyonlarında (15-35%) yetiştirilen *P. tricornutum*'un uçucu bileşikleri (µg/kg) (devam)

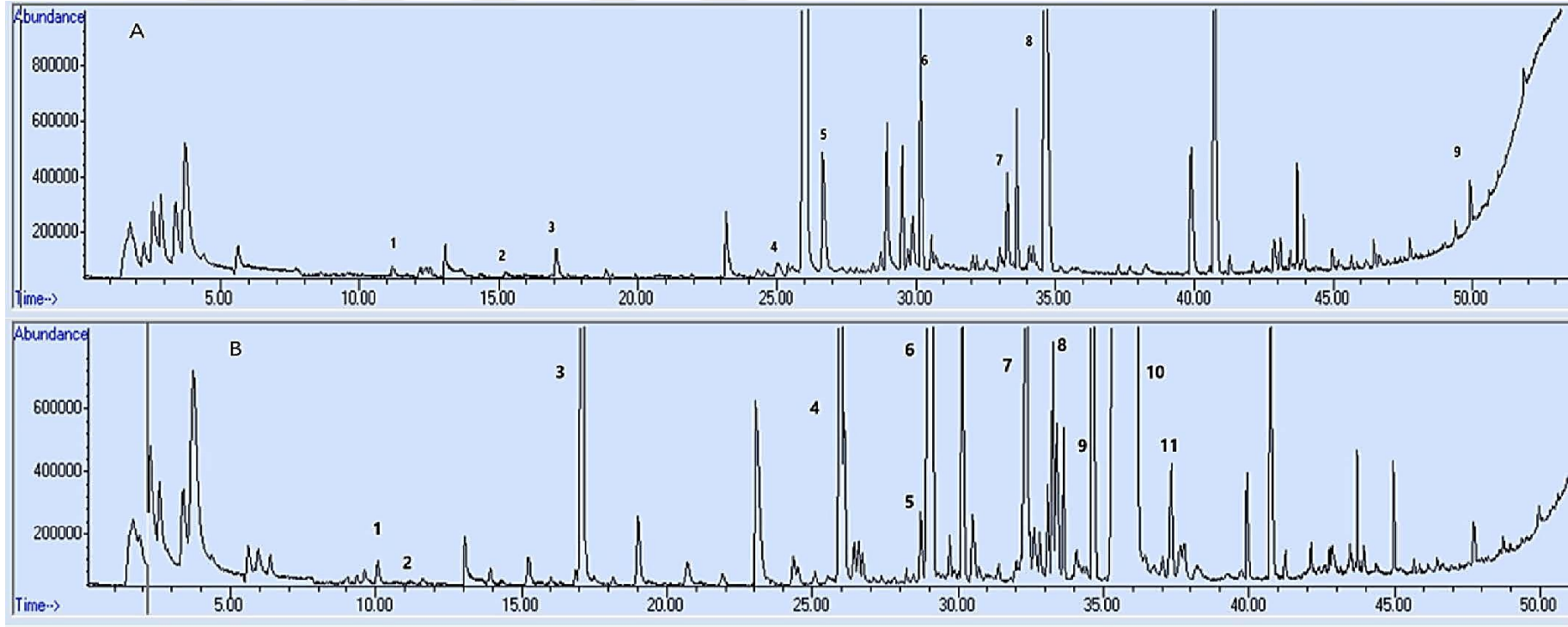
Kimyasal Gruplar	LRI	Uçucu Bileşikler	P15	P25	P30-C	P35
	780	2-Amino-1-propanol	3,63±0,59 ^b	3,68±0,87 ^b	3,70±0,62 ^b	1,51±0,15 ^a
	1551	2,6-Dimetil-γ-piron	4,21±0,26 ^b	2,87±0 ^a	6,75±0,18 ^c	2,90±0,81 ^a
	1490	2-Amino-1-(2-metoksifenil) propan	6,99±0,67 ^b	3,48±0,49 ^a	8,71±0,02 ^c	3,76±0,40 ^a
	755	2,3-Epoksi-1-propanol	9,54±0,05 ^c	5,07±0,39 ^b	3,42±0 ^a	3,19±0,48 ^a
	1232	4-Amino-1-pentanol	4,30±0,88 ^a	4,96±0,97 ^a	9,00±0,32 ^c	6,25±0,56 ^b
	1417	2-Metiltiyosiklododeka[c]tiyofen	5,81±1,22 ^a	7,76±0,73 ^b	9,01±0,25 ^c	7,62±1,99 ^b
	1450	Etil (2E)-4-[(2-aminopropanoil)amino]-6-metil-2-heptenoat	5,92±0,21 ^a	7,37±0,23 ^b	8,87±0,54 ^c	7,36±0,59 ^b
	1680	6-Aza-5,7,12,14-tetrathiapentacene	123,72±6,50 ^b	113,35±7,36 ^{ab}	154,03±0,43 ^c	66,55±2,99 ^a
	1955	1,2-Benzizotiyazol	12,28±4,69 ^b	9,72±2,10 ^a	13,59±1,01 ^c	10,98±3,42 ^b
	1867	Metil 1,1-aminododekanoat	3,51±1,21 ^{ab}	2,76±0,42 ^a	5,83±0,25 ^c	4,67±1,08 ^b
	2060	5-tert-bütoksi-2-tiyofenekarboksilik asit	3,09±0,08 ^a	3,61±0,48 ^a	3,01±0,08 ^a	3,53±0,12 ^a
	2284	Oksalurik asit	8,74±0,27 ^a	8,85±1,10 ^a	16,52±0,18 ^c	10,45±0,62 ^b
		Toplam	200,9±9,1^c	118,8±15,8^a	266,7±6,0^d	140,8±15,8^b
		Genel Toplam	698,0±59,9^b	645,6±45,6^b	843,4±33,1^c	533,6±34,3^a

Aynı satırdaki farklı harfler (a-d) istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05)

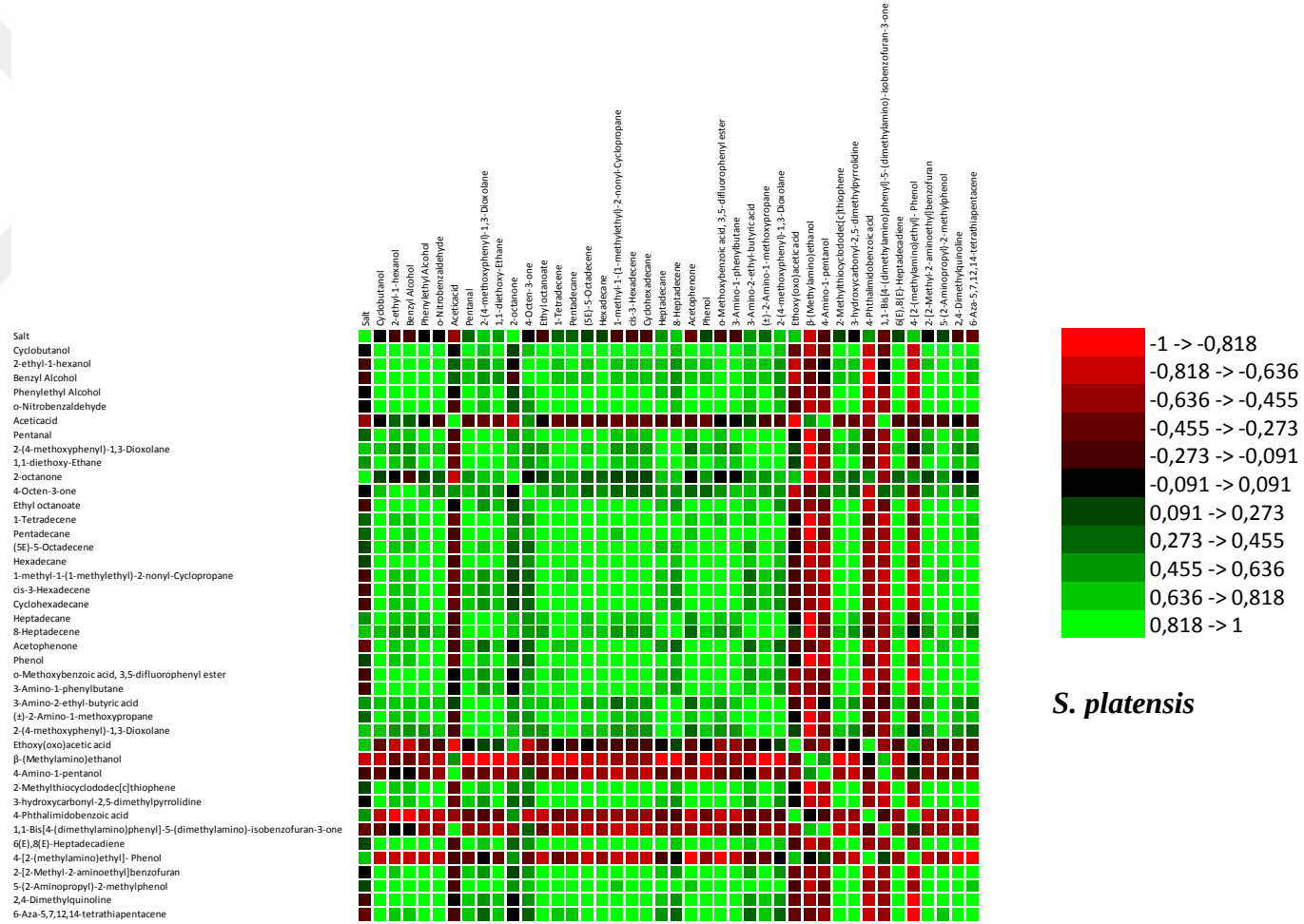
LRI: DB-WAX kapiler kolon üzerinde hesaplanan doğrusal alıkonma indeksi

te: Tespit edilmedi

P. tricornutum örneklerinde ayrıca 6-Aza-5,7,12,14 tetrapiantasen, iki aldehit olarak benzaldehit ve heptanal, bir aromatik hidrokarbon olarak asetofenon, bir hidrokarbon ve keton olarak 6-(1Z,3-butadienil)- 1,4-sikloheptadiene ve 2-octanone belirlenmiştir. Daha önce yapılan bir çalışmada, *P. tricornutum*'un iki farklı suşunda (BMD ve CCAP) en baskın uçucu bileşik 6-(1Z,3-butadienil)-1,4 sikloheptadiene olmuş, asetofenon ve dodekanoik asit de tespit edilmiştir (Prestegard ve diğerleri, 2015). *S. platensis* ve *P. tricornutum* için ortak olan uçucu bileşiklerasetik asit, asetofenon ve 6-aza-5,7,12,14 tetrapiantasen olarak belirlenmiştir. Tuz konsantrasyonu ile *P. tricornutum* ve *S. platensis* örneklerinin uçucu bileşikler arasında pozitif ve orta düzeyde bir korelasyon ($r = -0.30$) gözlenmiştir (Şekil 4.14). Hidrokarbonlar genellikle stearik ve palmitik asitlerin dekarboksilasyonu sonucu oluşur. Yüksek koku eşiklerine sahip olmalarına rağmen, varlıkları algilere istenmeyen bir çiğ balık tadı verir ve lezzetlerinin bozulmasına neden olabilir. Hidrokarbonlar olarak sınıflandırılan ve mumsu bir kokuya sahip olan heptadekan ve hekzadekanın baskın uçucu bileşikler olduğu ve antioksidan, antikanser ve anti-inflamatuar aktivite sergiledikleri bilinmektedir (Aguero, Lora, Estrada, Concepcion, Nunez, Rodriguez ve Pino, 2003; Bonsang, Gros, Peecken, Yassaa, Bluhm ve Zoellner, 2010; Cuellar-Bermúdez, Barba-Davila, Serna-Saldivar, Parra-Saldivar, Rodriguez-Rodriguez, Morales-Davila ve Chuck-Hernández, 2017; De Jesus ve diğerleri, 2018). Heptadekan hem algilerde hem de bitkilerde tespit edilmiş ve antikanser, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir (Aydi ve diğerleri, 2020; Cuellar-Bermúdez ve diğerleri, 2017). Önceki çalışmalarda, *S. platensis* örneklerinde hidrokarbonlara ek olarak, 6 metil-5-hepten-2-on, 5-metil-2-hekzanon, epoksi- β -iyonon, β -siklositral, 2-metilizoborneol, 2-pentilfuran ve β -iyonon gibi kokulu uçucular tespit edilmiştir (Aguero ve diğerleri, 2003; De Jesus ve diğerleri, 2018). Ege Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada, çeşitli çözücüler (metanol, diklorometan petrol eteri, etil asetat) kullanılarak elde edilen *S. platensis* 'in ekstraktlarında uçucu bileşenler incelenmiş ve ana bileşenler olarak heptadekan ve tetradekan tespit edilmiştir (Özdemir ve diğerleri, 2004).

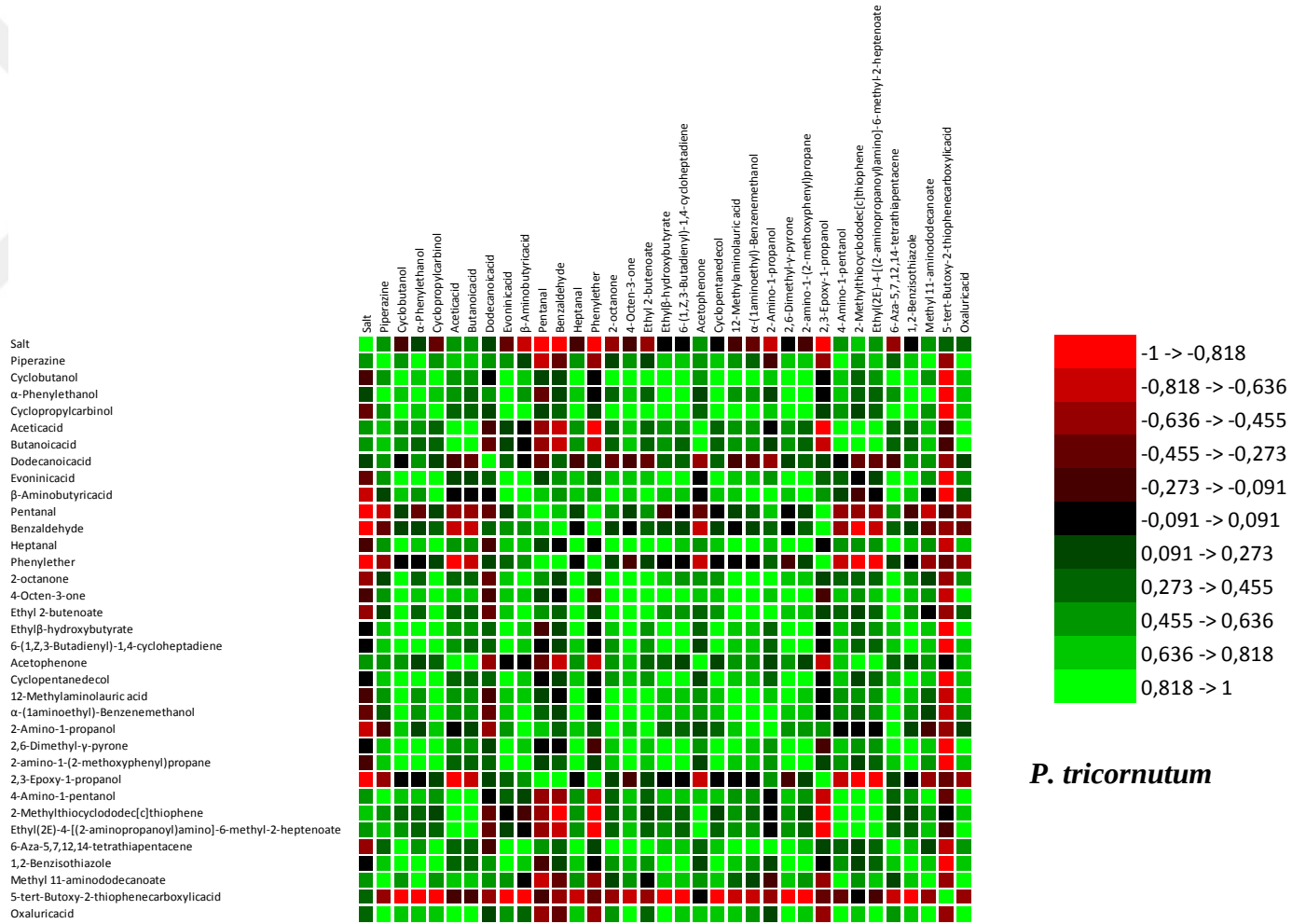


Şekil 4.13. *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin aroma bileşikleri için kromatogramlar (*P. tricornutum* (A) aroma bileşikleri; 1: 2 Pentanamin, 2: 1,2-Propandiamin, 3: 2-Oktanon, 4: 6-(1Z,3 Butadienil)-1,4-sikloheptadien, 5: Asetik asit, 6: Heptanal, 7: Asetofenon, 8: 6-Aza-5,7,12,14 tetratiapentasen, 9: Dodekanoik asit), *S. platensis*'in aroma bileşikleri (B) 1: N- Metiloktadekilamin, 2: 2 Pentanamin, 3: 2-Oktanon, 4: Asetik asit, 5: 2 Etil-1-hekzanol 6: Pentadekan, 7: Hekzadekan, 8: Asetofenon, 9: 6-Aza-5,7,12,14 tetratiapentasen, 10: Heptadekan, 11: 6(E),8(E) Heptadekadien).



S. platensis

Şekil 4.14. Tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin aroma bileşiklerinin korelasyon matrisi



Şekil 4.15. Tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin aroma bileşiklerinin korelasyon matrisi (devamı)

4.2.9. HPLC-PDA ile amino asitlerin sonuçları

Bitkiler genellikle tam bir esansiyel amino asit profili içermemektedir. Yüksek oranda protein içeren başta *S. platensis* olmak üzere birçok mikroalg, vegan diyeti olanlar için oldukça tatmin edici tam bir esansiyel amino asit profiline sahip tek bitki bazlı kaynaklardır (Chronakis ve Madsen, 2011). Besin değerinin etkinlik ve üretkenlik açısından süt, yumurta ve et gibi hayvansal protein kaynaklarından bile çok daha değerli olduğu belirtilmiştir (Van Krimpen, Bikker, Van Der Meer, Van Der Peetschwering ve Vereijken, 2013). Ayrıca, hayvansal ve diğer bitkisel protein kaynaklarının üretimi, mikroalglerin tükettiğinden yaklaşık 100 kat daha fazla tatlı su tüketirken, deniz mikroalgleri tatlı su olmadan da yetiştirilebilmektedir (Van Krimpen ve diğerleri, 2013; Pimentel ve Pimentel, 2003; Wallace, 2000). Dondurularak kurutulan *S. platensis* ve *P. tricornutum*'un aminoasit profili ve miktarları Tablo 4.8'de, korelasyon matrisi ise Şekil 4.15'te verilmiştir. Şekil 4. 16'da ise *S. platensis* ve *P. tricornutum*'da belirlenen amino asitlere ait kromatogramı verilmiştir.

Tablo 4.8. Farklı tuz konsantrasyonunda yetiştirilen *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin aminoasit bileşikleri ve miktarları (mg/100 g KA)

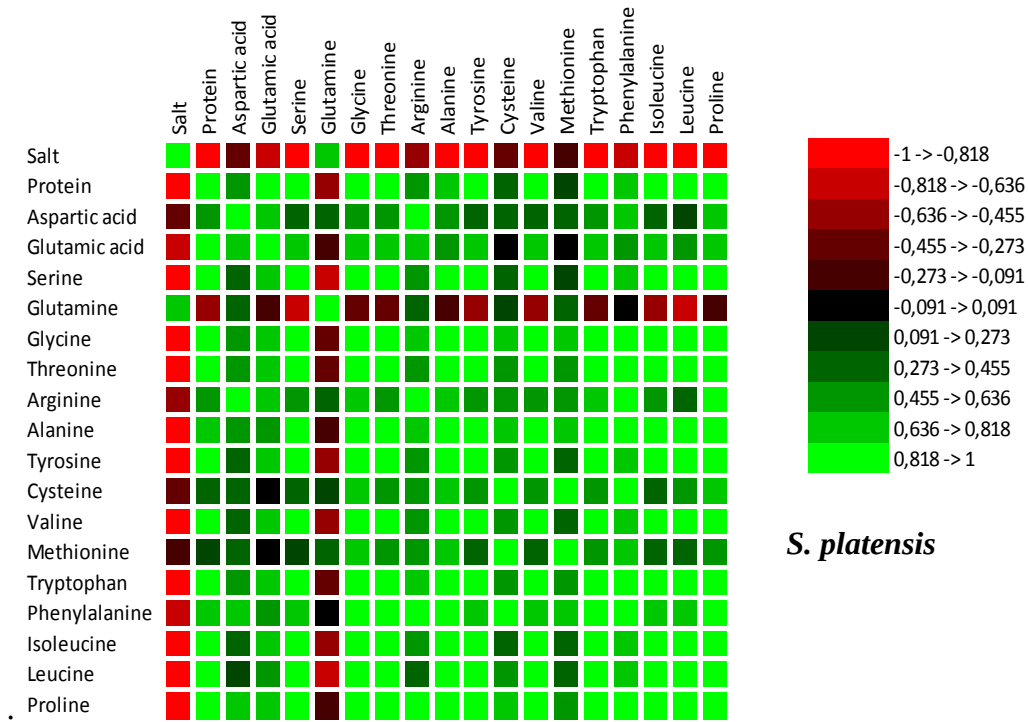
Aminoasitler (mg/100g KA)	<i>S. platensis</i>				<i>P. tricornutum</i>			
	S20-C	S25	S30	S35	P15	P25	P30-C	P35
Aspartik asit	11,06±0,09 ^{dG}	5,23±0,05 ^{aD}	9,11±0,76 ^{cF}	7,46±0 ^{bE}	3,76±0,05 ^{bB}	4,80±0,28 ^{cC}	3,75±0,12 ^{bB}	2,11±0,08 ^{aA}
Glutamik asit	11,06±0 ^{bC}	9,07±0,05 ^{aB}	11,76±0,02 ^{cC}	12,96±0,07 ^{dD}	6,10±0,10 ^{aA}	6,24±0,01 ^{aA}	6,03±0,16 ^{aA}	6,17±0,08 ^{aA}
Asparajin	3,27±0,02 ^{dD}	2,29±0,01 ^{bB}	2,83±0,04 ^{cC}	1,75±0,20 ^{aA}	5,10±1,59 ^{cG}	3,93±0,15 ^{bF}	3,68±0,07 ^{bE}	2,22±0,30 ^{aB}
Serin	5,49±0,30 ^{dD}	4,55±0,02 ^{cC}	3,29±0,14 ^{bB}	2,57±0,09 ^{aA}	3,65±0,18 ^{aB}	3,50±0,07 ^{aB}	3,38±0 ^{aB}	3,66±0,11 ^{aB}
Glutamin	te	te	te	te	4,51±0,70 ^{cC}	3,51±0,55 ^{bB}	3,78±0,06 ^{bB}	2,52±0,14 ^{aA}
Histidin	te	te	te	te	te	te	1,85±0,07 ^{aA}	te
Glisin	6,35±0,05 ^{dF}	4,79±0,02 ^{bE}	4,06±0 ^{aD}	4,25±0,01 ^{aD}	3,06±0,53 ^{cC}	2,93±0,24 ^{bB}	2,84±0,22 ^{aA}	2,53±0,40 ^{aA}
Treonin	6,94±0,40 ^{cE}	5,77±0,62 ^{bD}	5,25±0,04 ^{bD}	4,98±0,04 ^{aC}	2,66±0,35 ^{aA}	2,47±0,62 ^{aA}	5,35±0,43 ^{cD}	3,28±0,19 ^{bB}
Arjinin	4,67±0,04 ^{dE}	3,64±0,05 ^{aB}	4,13±0,01 ^{cD}	3,95±0,04 ^{bC}	3,58±0,15 ^{bB}	3,72±0,03 ^{bB}	4,26±0,16 ^{cD}	2,89±0,14 ^{aA}
Alanin	13,65±0,71 ^{cE}	10,49±0,02 ^{bD}	9,16±0,01 ^{aC}	9,85±0,04 ^{abC}	3,21±0,02 ^{aA}	3,01±0,02 ^{aA}	3,13±0,03 ^{aA}	3,67±0,14 ^{bB}
Tirozin	6,32±0,62 ^{cE}	4,74±0,46 ^{bD}	2,82±0,05 ^{aB}	2,06±0,04 ^{aB}	2,93±0,18 ^{bcB}	3,04±0,27 ^{cC}	2,75±0,12 ^{bB}	1,42±0,45 ^{aA}
Sistein	3,25±0,11 ^{dF}	1,85±0,19 ^{bB}	0,91±0,03 ^{aA}	2,68±0,04 ^{cD}	3,85±0,15 ^{cF}	2,39±0,11 ^{aC}	6,19±0,08 ^{dG}	2,88±0,09 ^{bE}
Valin	6,38±0,31 ^{cF}	4,79±0,23 ^{bE}	2,72±0,10 ^{aB}	2,24±0,02 ^{aB}	4,05±0 ^{cD}	4,32±0 ^{cD}	3,37±0 ^{bC}	1,63±0,23 ^{aA}
Metiyonin	2,75±0,11 ^{dD}	1,14±0,03 ^{bB}	0,58±0,01 ^{aA}	2,36±0,09 ^{cC}	3,43±0,17 ^{bE}	3,32±0,25 ^{bE}	3,24±0,03 ^{bE}	2,49±0,61 ^{aC}
Triptofan	7,41±0,34 ^{dE}	3,63±0,27 ^{cD}	2,87±0,07 ^{bC}	1,90±0,21 ^{aA}	3,42±0,43 ^{bD}	3,19±0,24 ^{bD}	3,51±0,01 ^{bD}	2,25±0 ^{aB}
Fenilalanin	2,50±0,04 ^{cC}	1,14±0,03 ^{bB}	0,97±0,03 ^{aA}	1,32±0,13 ^{bB}	2,49±0,62 ^{aC}	2,40±0,45 ^{aC}	3,15±0,05 ^{cD}	2,87±0,62 ^{bC}
İzolösin	12,85±0,02 ^{dE}	10,46±0,09 ^{cD}	8,94±0,07 ^{bC}	7,27±0,01 ^{aB}	3,47±0,34 ^{aA}	3,42±0,51 ^{aA}	3,68±0,71 ^{bA}	3,23±0,22 ^{aA}
Lösin	10,96±0,97 ^{dF}	8,96±0,04 ^{cE}	4,55±0,04 ^{bD}	3,71±0,08 ^{aC}	2,38±0,26 ^{aA}	2,58±0,29 ^{aA}	2,85±0,03 ^{bB}	2,41±0,18 ^{aA}
Prolin	0,85±0,08 ^{aB}	1,27±0,01 ^{aD}	1,05±0,02 ^{aC}	3,40±0,05 ^{dE}	0,80±0,01 ^{bB}	0,69±0,02 ^{aB}	0,53±0 ^{aA}	1,00±0,03 ^{cC}
Toplam	115,8±0,2^{dH}	83,8±0,2^{cG}	75,0±0,6^{bF}	74,26±0,8^{aE}	62,5±0^{cC}	59,5±0,6^{bB}	67,3±0,7^{dD}	49,3±1,7^{aA}

Aynı satırdaki farklı harfler (a-d) istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05)

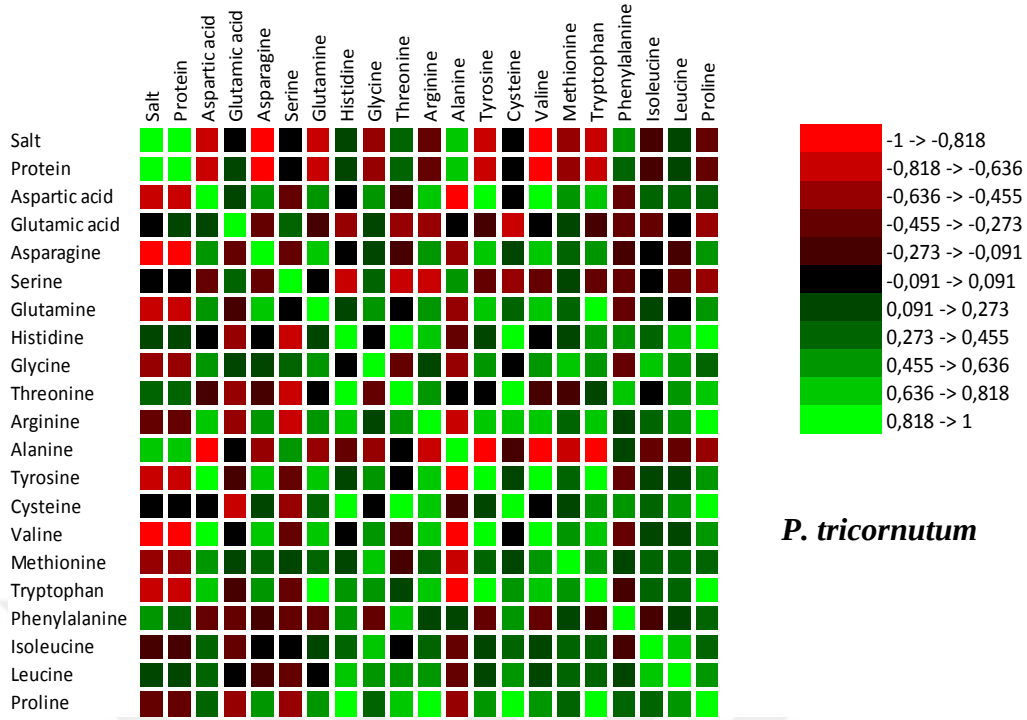
** (a-d): İstatistiksel analiz *S. platensis* ve *P. tricornutum* için ayrı ayrı uygulanmıştır. ** (A-H): *S. platensis* ve *P. tricornutum* arasındaki istatistiksel farkı ifade etmektedir.

Te: tespit edilemedi

S. platensis örneklerinde toplam 17 adet amino asit tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin toplam miktarlarının 74-115 g/100 g KA arasında değiştiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). *S. platensis* örneklerinde baskın amino asitler sırasıyla 13,65, 11,06 ve 11,06 g/100 g KA miktarlarıyla alanin, aspartik ve glutamik asitler olmuştur. *P. tricornutum* ve *S. platensis* türlerinin her ikisinde de artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak toplam protein miktarı azalma göstermiştir. Tuz stresine bağlı olarak her iki türde de amino asit miktarındaki azalmanın nedeni, hücrelere su girişinin kısıtlanmasına bağlı olarak ozmotik stresin artmasına ve bunun sonucunda proteinlerin, lipidlerin ve nükleik asitlerin zarar görmesine bağlanabilir (Amirul Alam ve diğerleri, 2015). *S. platensis* örneklerindeki baskın amino asitlerin sırasıyla 6,75 ve 3,79 g/100 g miktarlarıyla glutamik ve aspartik asit olduğu görülmüştür (Uslu ve diğerleri 2009). Prolin miktarının da her iki tür için tuz stresine bağlı olarak arttığı ve miktarının *P. tricornutum* ve *S. platensis* örnekleri için sırasıyla 0,53 ile 1,0 g/100 g KA ve 0,85 ile 3,40 g/100 g KA arasında değiştiği gözlenmiştir.



Şekil 4.16. Tuz konsantrasyonuna bağlı olarak *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin protein ve amino asitlerinin korelasyon matrisi

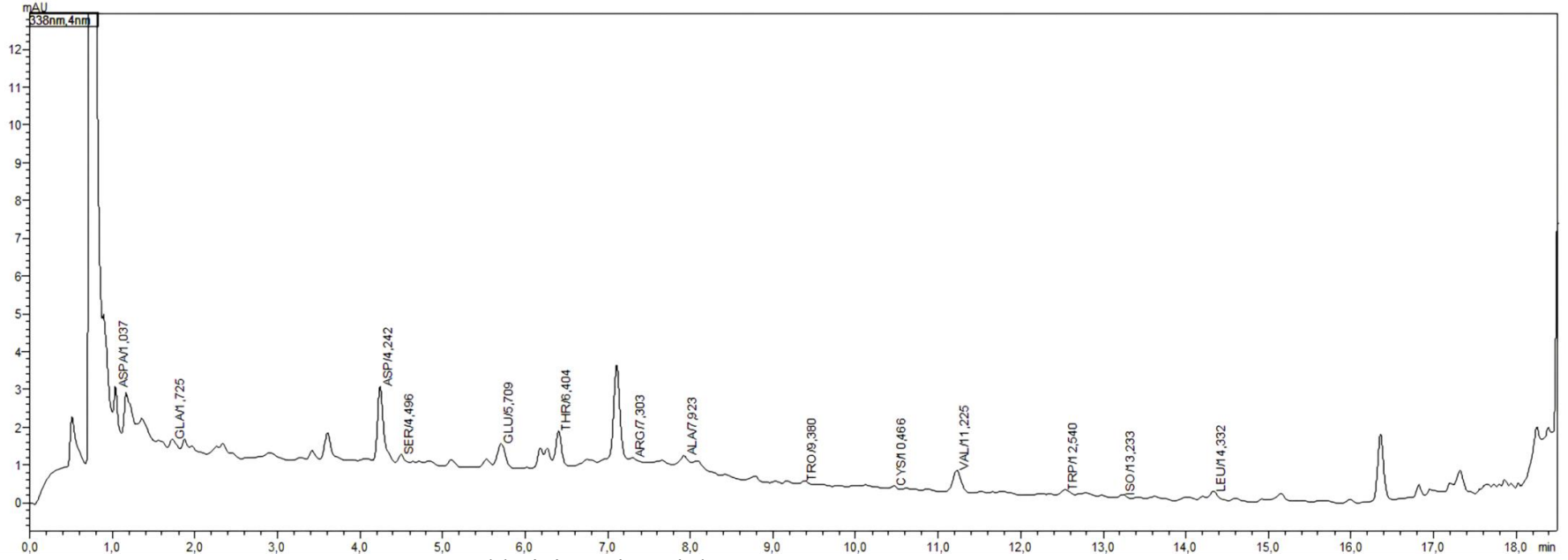


Şekil 4.17. Tuz konsantrasyonuna bağlı olarak *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin protein ve amino asitlerinin korelasyon matrisi (devamı)

Ozmotik stres altında prolin içeriğindeki artışın sentez ve degradasyon arasındaki denge tarafından belirlendiği ve birikim kapasitesinin abiyotik stres toleransı ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Amirul Alam ve diğerleri, 2015). *P. tricornutum* örneklerinde toplam 19 amino asit belirlenmiş ve toplam amino asit miktarının 49-67 g/100 g KA arasında değiştiği ve tuz konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığı görülmüştür ($p < 0,05$). Kontrol grubunun üzerindeki ve altındaki tuz içerikleri toplam amino asit miktarında önemli bir azalmaya neden olmuştur. Amino asit profillerine bakıldığında, baskın amino asidin glutamik asit olduğu ve en yüksek miktarın P25 numunesinde tespit edildiği görülmüştür (Tablo 4.5). Histidin sadece kontrol grubunda (P30-C) tespit edilmiş ve diğer tuz konsantrasyonları ile üretilen örneklerde tespit edilmemiştir. *P. tricornutum* ve *S. platensis* örneklerinin tuz konsantrasyonu ile amino asit miktarları arasında negatif ve güçlü ($r = -0,85$) bir korelasyon gözlenmiştir (Şekil 4. 15). Alanin (Ala,) aynı zamanda 2-aminopropanoik asit olarak adlandırılmaktadır. Proteinlerin yaklaşık olarak %7,8'i alanin yapıtaşlarından oluşmaktadır. Diğer birçok amino asitte olduğu gibi hem L- hem de D- isomeri bulunmaktadır. Alaninin bazı bakterilerin hücre duvarlarında ve peptit antibiyotiklerin yapılarında bulunduğu bilinmektedir. Doğada en yaygın bulunan L-isomeridir. D-alanin, bazı bakterilerin hücre duvarlarında ve peptid antibiyotiklerin yapılarında da bulunmaktadır. Hemen hemen tüm proteinler alanin içermektedirler.

Dolayısıyla protein içeren et, süt, yumurta gibi genel besinler aynı zamanda zengin birer alanin kaynağıdır (Barrett, 2012). Glisin ise yapısal olarak proteinlerde bulunan 20 aminoasit arasında en basit olanıdır. Diğer baskın bileşikler olan aspartik ve glutamik asit, proteinlerin ana parçalarıdır ve beyin fonksiyonları için büyük öneme sahip oldukları bilinmektedir.

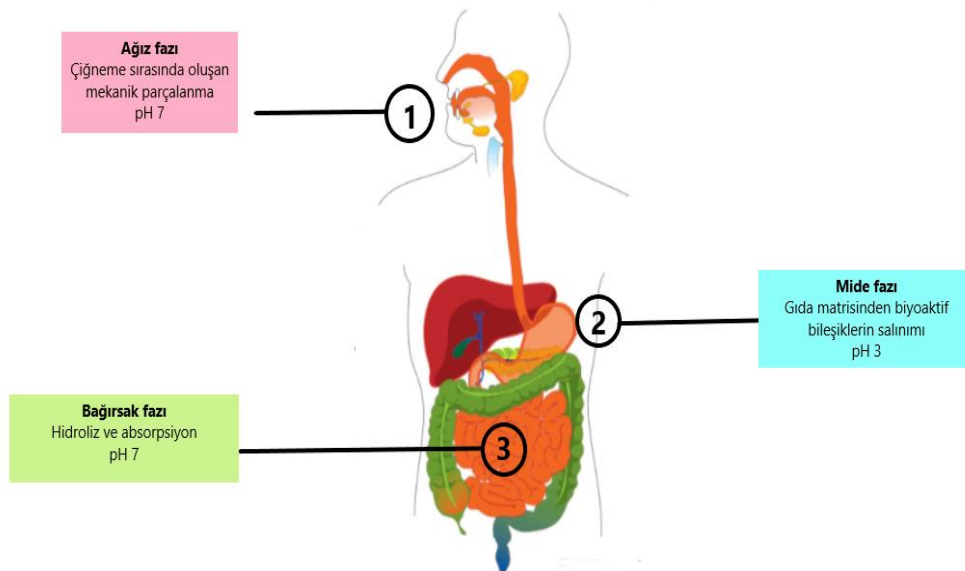




Şekil 4.18. *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinin aminoasit kromatogramı

4.2.10. Biyoaktif bileşiklerin in vitro sindirim ile biyoerişilebilirlik sonuçları

Biyoyararlanım, aktif formda ve uygun konsantrasyonda insan vücudundaki ilgili bölgelere ulaşan sindirilen bileşiğin fraksiyonu olarak tanımlanmaktadır (Rein, Renouf, Cruz-Hernandez, Actis-Goretta, Thakkar ve Da Silva Pinto, 2013). Biyoyararlanım, biyoerişilebilirlik ve biyoaktivite olmak üzere iki terimi içermektedir (Fernández-García, Carvajal-Lérída ve Pérez-Gálvez, 2009). Biyoerişilebilirlik, sindirimden sonra alım için bağırsakta çözülmek üzere gıda matrisinden salınan bir bileşiğin fraksiyonunu temsil ederken (Bernaerts, Gheysen, Foubert, Hendrickx ve Van Loey, 2019), biyoaktivite ise bileşiklerin hedef dokuya ulaşmak için sistemik dolaşıma taşınması, diğer biyomoleküllerle etkileşime girmesi ve bir dizi biyokimyasal ve fizyolojik etki oluşturmaktır (Cilla, Bosch, Barbera' ve Alegr'la, 2018). Sindirimin etkilerinin araştırılması, insanlar üzerinde yapılan *in vivo* çalışmalarda etik kaygılar nedeniyle kısıtlandığından, ayrıca zaman alıcı ve maliyetli olmasından dolayı *in vitro* modeller geliştirilmiştir. *In vitro* sindirim modelleri, polifenollerin gıda matrisinden salınımını belirlemek ve vücutta emilmeden önce profillerindeki değişiklikleri değerlendirmek için kullanılmaktadır (Alminger, Aura, Bohn, Dufour, El, Gomes, Karakaya, Martínez-Cuesta, Mcdougall ve Requena, 2014). Polifenollerin biyoerişilebilirliğinin tespit edilmesi için sırasıyla ağız, mide ve bağırsak sindirimini laboratuvar koşullarında simüle eden üç aşamalı bir *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli uygulanmıştır (Brodkorb ve diğerleri, 2019). Biyoaktif bileşiklerin sindirim aşamalarına ait şema Şekil 4. 17'de verilmiştir.



Şekil 4.19. Biyoaktif bileşiklerin genel sindirim şeması

Son derece besleyici ve fonksiyonel bileşenler açısından zengin bir kaynak olarak kabul edilen mikroalglerin, vitaminler, karotenoidler, fikosiyenin, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) ve polifenoller de dahil olmak üzere biyoaktif molekülleri sentezlediği bilinmektedir (Le Goff, Le Ferrec, Mayer, Mimouni, Lagadic-Gossmann, Schoefs ve Ulmann, 2019). Bu bileşikler, antioksidan, antikanser, antiviral, kardiyoprotektif, hepatoprotektif ve immünomodülatör gibi çok çeşitli fizyolojik ve farmakolojik aktivitelere sahiptir (El-Baz, Abdel-Jaleel, Saleh ve Hussein, 2018). Epidemiyolojik çalışmalar, biyoaktif moleküller içeren doğal gıdaların alımının insan sağlığını ve beslenme durumunu iyileştirdiğini göstermektedir (Granado-Lorencio, Herrero-Barbudo, Acie'N-Ferna'Ndez, Molina-Grima, Ferna'Ndez-Sevilla, Pe'Rez-Sacrista'N ve Blanco-Navarro, 2009). Bu bağlamda, mikroalglerden biyoaktif bileşiklerin izolasyonu, mikroalglerin yüksek üretkenliği nedeniyle büyük önem kazanmıştır (Rasmussen ve Morrissey, 2007). Ayrıca, mikroalglerden elde edilen biyoaktif bileşikler, gıda katkı maddeleri, nutrasötikler ve ilaç endüstrisinde kullanıldıkları için önemli ticari uygulamalara sahiptir (Se-Kwon ve Kyong-Hwa, 2011).

Bu çalışmada uygulanan *in vitro* sindirim modelinden elde edilen üst faz örneklerinin antioksidan aktiviteleri ve TFM'leri Tablo 4.9'da verilmiştir. Ağız, mide ve bağırsaklardaki örnekler arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir ($p < 0,05$). *S. platensis* örnekleri için DPPH yöntemiyle saptanan en yüksek antioksidan potansiyeli ağız, mide ve bağırsaklarda S20-C kontrol örneğinde 0,09, 0,40 ve 0,87 mM Trolox/100 g KA, ABTS yöntemiyle saptanan antioksidan potansiyeli 5,26, 5, 79 ve 37,26 mM Trolox/100 g KA iken, CUPRAC yöntemiyle saptanan antioksidan potansiyeli sırasıyla 78,58, 86,83 ve 7078,48 mM Trolox/100 g KA ve TFM miktarları ise 717,38, 1325,05 ve 1641,55 mg/100 g KA olarak belirlenmiştir (Tablo 4. 9). *S. platensis* örneklerinin DPPH, ABTS, CUPRAC ve TFM miktarları "bağırsak> mide> ağız" sırasına göre gözlenmiştir. Ağız, mide ve bağırsaklardaki en düşük DPPH yöntemiyle saptanan antioksidan potansiyeli S30 ve S35 örneklerinde sırasıyla 0,05, 0,23 ve 0,68 mM Trolox/100 g KA olarak belirlenmiştir. Ağız, mide ve bağırsaklardaki ABTS yöntemiyle saptanan antioksidan potansiyeli ise S30 numunesinde sırasıyla 3,98, 4,66 ve 22,95 mM Trolox/100 g KA olarak belirlenmiştir. En düşük CUPRAC yöntemiyle saptanan antioksidan potansiyeli S35 numunesinde ağız, mide ve bağırsaklarda sırasıyla 62,49, 69,70 ve 4155,43 mM Trolox/100 g KA olarak hesaplanırken, TFM miktarları ise S30 numunesinde ağız, mide ve bağırsaklarda sırasıyla 554,70, 904,60 ve 1139,18 mg/100 g KA olarak hesaplanmıştır. Bir bileşiğin gıdadaki toplam konsantrasyonu, biyolojik olarak erişilebilir olan gerçek miktardan

önemli ölçüde farklı olabilir. Bu nedenle, sindirim sırasında meydana gelen değişiklikleri ve biyoerişilebilirliği anlamak, biyoerişilebilirliği ve biyoaktiviteyi tahmin etmek için gereklidir (Alminger ve diğerleri, 2014). *P. tricornutum* örneklerinde DPPH yöntemiyle saptanan en yüksek antioksidan potansiyeli 0,05, 0,31 ve 0,45 mM Trolox/100 g KA, ABTS yöntemiyle saptanan en yüksek antioksidan potansiyeli 0,35, 0,72 ve 16,96 mM Trolox/100 g KA ve CUPRAC saptanan en yüksek antioksidan potansiyeli P30-C kontrol örneğinde ağız, mide ve bağırsaklarda sırasıyla 64,23, 62,90 ve 1151,18 mM Trolox/100 g KA olarak belirlenmiştir (Tablo 4.9). TFM miktarları sırasıyla 69,22, 517,98 ve 557,97 mg/100 g KA olarak belirlenmiştir. *P. tricornutum* örneklerinin DPPH, ABTS, CUPRAC ve TPC miktarlarının sıralaması "bağırsak> mide> ağız" şeklindedir. Ağızdaki DPPH saptanan en düşük antioksidan potansiyeli P15, P25 ve P35 kodlu örneklerde 0,03 mM Trolox/100 g KA, mide ve bağırsakta ise P35 örneğinde sırasıyla 0,15 ve 0,18 mM Trolox/100 g KA olarak belirlenmiştir. Ağızdaki ABTS saptanan en düşük antioksidan potansiyeli mide ve bağırsaklarda P15 kodlu örnekte 0,27 mM Trolox/100 g KA, P35 kodlu örnekte ise sırasıyla 0,63 ve 13,89 mM Trolox/100 g KA olarak belirlenmiştir. En düşük CUPRAC yöntemiyle saptanan antioksidan potansiyeli ağız, mide ve bağırsak örneklerinde sırasıyla 32,20, 43,50 ve 649,06 mM Trolox/100 g KA olarak hesaplanırken, TFM miktarları ağızda P25 kodlu örnekte 53,93 mg/100 g KA, midede P15 örnekte 130,07 mg/100 g KA ve bağırsakta P35 örnekte 491,14 mg/100 g KA olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.9. Dondurularak kurutulmuş *S. platensis* ve *P. tricornutum* toz örneklerindeki antioksidan aktivite (DPPH, ABTS ve CUPRAC) ve toplam fenolik bileşikler (TFM) üzerinde in vitro sindirim modelinin yetiştirme ortamı tuz konsantrasyonuna bağlı olarak etkisi.

Türler	Örnekler	Ağız fazı				Mide Fazı				Bağırsak Fazı			
		DPPH	ABTS ⁺	CUPRAC	TFM	DPPH	ABTS ⁺	CUPRAC	TFM	DPPH	ABTS ⁺	CUPRAC	TFM
<i>S. platensis</i>	S20-C	0,09 ± 0,00 ^{Cb}	5,26 ± 0,05 ^{Dc}	78,58 ± 1,34 ^{Eb}	717,38 ± 4,08 ^{Fd}	0,40 ± 0,00 ^{Db}	5,79 ± 0,11 ^{Cb}	86,83 ± 0,52 ^{Eb}	1325,05 ± 25,79 ^{Fd}	0,87 ± 0,00 ^{Fb}	37,26 ± 0,38 ^{Gc}	7078,48 ± 25,24 ^{Fc}	1641,55 ± 17,65 ^{Fc}
	S25	0,05 ± 0,00 ^{Ba}	3,98 ± 0,03 ^{Ba}	64,90 ± 0,44 ^{Da}	554,70 ± 10,27 ^{Ca}	0,23 ± 0,00 ^{Ba}	4,66 ± 0,08 ^{Ba}	71,72 ± 0,40 ^{Da}	904,60 ± 9,43 ^{Ca}	0,68 ± 0,01 ^{Ea}	22,95 ± 0,38 ^{Ea}	4695,91 ± 20,58 ^{Eb}	1139,18 ± 7,40 ^{Da}
	S30	0,05 ± 0,00 ^{Ba}	4,09 ± 0,06 ^{Cb}	63,69 ± 0,09 ^{Da}	611,4 ± 11,95 ^{Db}	0,23 ± 0,00 ^{Ba}	4,72 ± 0,17 ^{Ba}	70,71 ± 0,32 ^{Da}	957,50 ± 11,65 ^{Db}	0,68 ± 0,01 ^{Ea}	24,09 ± 0,65 ^{Fb}	4425,67 ± 16,25 ^{Da}	1197,15 ± 3,50 ^{Da}
	S35	0,05 ± 0,00 ^{Ba}	4,21 ± 0,09 ^{Cb}	62,49 ± 1,36 ^{Da}	668,10 ± 13,48 ^{Ec}	0,23 ± 0,00 ^{Ba}	4,79 ± 0,26 ^{Ba}	69,70 ± 0,23 ^{Da}	1010,41 ± 14,56 ^{Ec}	0,68 ± 0,01 ^{Ea}	25,24 ± 0,86 ^{Fb}	4155,43 ± 11,77 ^{Da}	1255,12 ± 4,88 ^{Eb}
<i>P. tricornutum</i>	P15	0,03 ± 0,00 ^{Aa}	0,27 ± 0,01 ^{Aa}	42,39 ± 1,97 ^{Bb}	58,13 ± 0,80 ^{Aa}	0,21 ± 0,01 ^{Bb}	0,73 ± 0,01 ^{Aa}	50,74 ± 0,79 ^{Bb}	130,07 ± 3,30 ^{Aa}	0,31 ± 0,00 ^{Bb}	14,77 ± 0,24 ^{Bb}	698,23 ± 10,25 ^{Aa}	497,82 ± 4,02 ^{Bb}
	P25	0,03 ± 0,00 ^{Aa}	0,28 ± 0,00 ^{Aa}	47,22 ± 0,60 ^{Cc}	53,93 ± 3,58 ^{Aa}	0,24 ± 0,01 ^{Bb}	0,72 ± 0,07 ^{Aa}	56,85 ± 0,21 ^{Cc}	151,94 ± 4,29 ^{Aa}	0,36 ± 0,00 ^{Cc}	15,27 ± 0,19 ^{Cc}	714,82 ± 14,67 ^{Bb}	519,28 ± 1,31 ^{Bb}
	P30-C	0,05 ± 0,00 ^{Bb}	0,35 ± 0,01 ^{Aa}	64,23 ± 0,77 ^{Dd}	69,22 ± 0,58 ^{Bb}	0,31 ± 0,00 ^{Cc}	0,74 ± 0,01 ^{Aa}	62,90 ± 1,19 ^{Dd}	517,98 ± 1,57 ^{Bb}	0,45 ± 0,00 ^{Dd}	16,96 ± 0,11 ^{Dd}	1151,18 ± 15,20 ^{Cc}	557,97 ± 0,90 ^{Cc}
	P35	0,03 ± 0,00 ^{Aa}	0,29 ± 0,01 ^{Aa}	32,20 ± 2,10 ^{Aa}	64,78 ± 1,09 ^{Aa}	0,15 ± 0,00 ^{Aa}	0,63 ± 0,01 ^{Aa}	43,50 ± 1,10 ^{Aa}	161,94 ± 3,21 ^{Aa}	0,18 ± 0,00 ^{Aa}	13,89 ± 0,19 ^{Aa}	649,06 ± 4,90 ^{Aa}	491,14 ± 7,78 ^{Aa}

Aynı sütundaki farklı üst simgeler p < 0,05 düzeyinde istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

*(a-d): *S. platensis* ve *P. tricornutum* örneklerinde ayrı ayrı tuz konsantrasyonları içindeki istatistiksel farklılıkları gösterir.

*(A-G): *S. platensis* ve *P. tricornutum* örnekleri arasındaki istatistiksel farklılıkları gösterir.

S. platensis selülozik olmayan ve %86 oranında sindirilebilir bir hücre duvarına sahipken, *P. tricornutum* ise silisli bir hücre duvarına sahiptir. Hücre duvarlarının bütünlüğü vitaminler, pigmentler ve yağ asitleri gibi bileşiklerin varlığını ve aktivitesini önemli ölçüde sınırlayabilir; bu nedenle, hücresel içeriğin serbest bırakılmasına izin vermek için bir ön işlem olarak mikroalgal hücre duvarının bozulması gerekir (Nunes, Graca, Vlaisavljevic, Tenreiro, Sousa ve Raymundo, 2020). Bu çalışmada *S. platensis* örneklerinin ağız, mide ve bağırsak aşamalarındaki antioksidan kapasite ve TPC miktarlarının *P. tricornutum* örneklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 4. 9) (Uzlasir ve diğerleri, 2023b).

. Bu durum, *S. platensis*'in *P. tricornutum*'a kıyasla selülozik olmayan ve kolayca parçalanabilen bir hücre duvarına sahip olmasına bağlanabilir. İnce bağırsakta tamamen sindirilmeyen alg proteinleri ve karbonhidratlar, mikrobiyal tepkileri destekleyerek bağışıklık tepkisini dolaylı olarak uyarmak suretiyle gastrointestinal sisteme fayda sağlayabilir (Cian, Drago, De Medina ve Martínez-Augustin, 2015).

4.2.11. Mikrobiyolojik analiz sonuçları

Bazı mikroorganizmalar, gıdaların lezzet, doku ve görünümünde olumlu değişikliklere neden olup yararlı kabul edilirken, bazıları ise gıda üzerinde istenmeyen değişikliklere neden olarak gıdayı bozabilmektedir. Mikroorganizmaların gıdaları bozma potansiyeli, bozulma ile ilişkili ve tüketiciler tarafından gıdaların reddedilmesine yol açacak metabolitler üretme yeteneklerine dayanmaktadır. Genel olarak, bir gıdadaki birçok mikroorganizma, belirli bir seviyenin üzerinde ulaştığında istenmeyen metabolitler üretme yeteneğine sahiptir. Gıdalarda bozulmaya neden olan mikroorganizmaların büyümesi ise renk, koku, doku ve görünüm gibi duyuşsal özelliklerde değişikliklere neden olabilmektedir (Gram, Ravn, Rasch, Bruhn, Christensen ve Givskov, 2002).

Gıdalara uygulanan mikrobiyolojik analizler, temel olarak gıdalardaki istenmeyen mikroorganizmaların varlığının ortaya konması ve gıdanın tüketilebilir olup olmadığının açığa çıkartılması için yapılır. Gıdaların işleme, taşınma ve depolanması aşamalarında eksik ve/veya hatalı uygulamalar sonucunda gıdaları bozan, insanlarda hastalık durumlarının oluşmasına yol açan mikroorganizmaların saptanmasına yönelik yapılan temel analizleri içermektedir (Bell, Neaves ve Williams, 2005).

Toplam aerofilik ve mezofilik bakterilerin sayısı, gıdanın muhtemel raf ömrü ve üretim aşamalarındaki kontaminasyon düzeyleri hakkında bilgi verebilmektedir (Temiz, 2003). Tablo 4.10'da *S. platensis* ve *P. tricornutum*'a ait toplam aerobik mezofilik bakteri ve maya/küf miktarı verilmiştir.

Tablo 4.10. Dondurularak kurutulmuş *S. platensis* ve *P. tricornutum* toz örneklerinin yetiştirme ortamında tuz konsantrasyonuna bağlı olarak toplam aerobik mezofilik bakteri ve maya/küf sayıları

Türler	Örnekler	Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı (kob/g)	Maya/Küf Sayısı (kob/g)
<i>S. platensis</i>	S20-C	>300	<10
	S25	$1,7 \times 10^4$	1×10^4
	S30	$1,9 \times 10^4$	<10
	S35	$1,21 \times 10^4$	<10
<i>P. tricornutum</i>	P15	$2,24 \times 10^4$	<10
	P25	$1,88 \times 10^4$	$1,15 \times 10^4$
	P30-C	>300	$1,25 \times 10^4$
	P35	$2,78 \times 10^4$	$1,35 \times 10^4$

Küfler miselyum oluşturan çok hücreli funguslar olarak tanımlanırken, mayalar tek hücreli ve genellikle miselyum oluşturmeyen yapılar olarak tanımlanmaktadır. Maya ve küfler, oldukça geniş pH aralığında (pH değeri 2-9), depolama sıcaklığında (10-35 °C) ve su aktivitesinde (0.85 ve üzeri) üreyebilmektedir. Aynı zamanda yüksek tuz ve şeker konsantrasyonuna sahip ortamlarda kolaylıkla gelişebilmektedirler. Bozulmaya yol açan maya ve küfler gıdalarda acı tat ve kötü koku oluşumu, gaz oluşturma özellikleri sayesinde, bazı gıdalarda istenmeyen gözenekli yapı oluşumu gibi birtakım bozukluklara neden olmaktadır. Bazı küf türleri ise bulaştıkları gıda maddesinde gelişerek salgıladıkları toksik metabolitler, mikotoksinler nedeniyle, gıda maddesinin tüketilmesi durumunda ölümle sonuçlanabilen zehirlenmelere yol açabilmektedirler. Maya ve küf sayısı açıkta pazarlanan, üretim teknolojisi gereği paketlenme işleminden önce açık havaya maruz kalan, ürün pastörize olsa dahi ambalaj meteryalinden bulaşma olabilen, yıkama ve soğutma/dondurma dışında teknolojik işlem görmeyen gıdalar için önemli bir kalite göstergesidir. Baharat gibi toprakla teması fazla olan ve yıkama bile yapılmadan sadece öğütülüp ambalajlanan ürünlerde küf sayısı oldukça yüksek iken şekerli ürünlerde ise daha çok maya hâkim olmaktadır.

Mevcut çalışmada elde edilen *S. platensis* ve *P. tricornutum* rneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri miktarları ve maya/küf sayıları Tablo 4.10'da verilmiştir. Büyüme ortamına farklı tuz konsantrasyonları eklenerek kültüre edilen *S. platensis* ve *P. tricornutum* rneklerindeki toplam aerobik mezofilik bakteri sayıları *S. platensis* rnekleri için $300-1.9 \times 10^4$ kob/g, *P. tricornutum* rnekleri için ise $300-2.78 \times 10^4$ kob/g olarak bulunmuştur (Tablo 4. 10). Genel olarak, bir gıda örneğinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının 10^5 kob/g'ın üzerinde olması, o gıdanın hazırlanması sırasında genel hijyen kurallarına uyulmadığının bir göstergesidir. Dolayısıyla, bu çalışmada elde edilen toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının kabul edilebilir düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Avrupa Birliği (AB) standartlarına göre toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı için kritik seviye 10^5 kob/mL iken Türk Gıda Kodeksi'ne (TGK) göre 10^3 kob/g'dir (Türk Gıda Kodeksi, 2010). *S. platensis* ve *P. tricornutum* rneklerinin maya/küf sayıları *S. platensis* rnekleri için $10-1.0 \times 10^4$ kob/g, *P. tricornutum* rnekleri için ise $10-1.35 \times 10^4$ kob/g ve olarak bulunmuştur (Tablo 4. 10). Maya/küf sayısı için kritik kabul edilebilirlik seviyesi AB'ye göre 10^4 kob/mL iken, TGK ve Dünya Sağlık rgt (WHO) standartlarına göre 10^3 kob/mL'dir. Mevcut çalışmadan elde edilen veriler AB, WHO ve TGK standartlarına göre orta derecede kabul edilebilir bulunmuştur (Türk Gıda Kodeksi, 2010). Fas'ta yetiştirilen *S. platensis* ile yapılan bir çalışmada toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 208 kob/mL, maya ve küf sayısı ise 14 kob/mL olarak tespit edilmiştir (Seghiri ve diğerleri, 2019).

5. SONUÇLAR

Tez çalışması kapsamında, mavi-yeşil alg olan *S. platensis* ve diyatom türü olan *P. tricornutum*'un kontrollü laboratuvar koşullarında farklı tuz konsantrasyonlarının besi ortamlarına eklenmesiyle üretimi gerçekleştirilmiştir. Analizler, deneme süresince ve dondurularak kurutulan toz örneklerde olmak üzere 2 aşamada yürütülmüştür. Deneme süresince, klorofil-*a*, toplam karotenoid, optik yoğunluk, kuru madde, fikosiyanin ve fukoksantin analizleri, dondurularak kurutulan örneklerde ise pH ölçümleri, kuru madde, protein, antioksidan kapasite (DPPH, ABTS ve CUPRAC metotları ile), toplam fenolik madde, uçucu bileşikler, fenolik profili, amino asit içerikleri, şeker ve renk bileşimleri, antimikrobiyal aktivite ve mikrobiyolojik analizler ile *in vitro* sindirim sistemi metodu ile biyoaktif bileşiklerin biyoerişilebilirlikleri ve antioksidan kapasite analizleri yapılmıştır.

Tuz stresi mikroalg büyümesini ve biyokütle verimini etkileyen önemli bir faktördür. Tuz oranının değişmesi, optik yoğunluk, kuru madde, klorofil-*a*, toplam karotenoid, fikosiyanin, fukoksantin, şeker, organik asit, aroma ve amino asit miktarları azalmıştır. *S. platensis* için klorofil-*a* miktarı 1050-1253 µg/L arasında değişmiştir. Deneme süresince en yüksek klorofil-*a* miktarı kontrol grubunda (S20-C) gözlenmiştir. *P. tricornutum* için ise klorofil-*a* miktarı 329-530 µg/L arasında değişmiştir. Deneme süresince en yüksek klorofil-*a* miktarı kontrol grubunda (P30-C) gözlenmiştir. Genel olarak klorofil-*a* miktarları değerlendirildiğinde besin ortamında tuz konsantrasyonun değiştirilmesi ile klorofil-*a* miktarında azalma saptanmıştır. *S. platensis* için toplam karotenoid miktarı 0,15-0,19 µg/L aralığında saptanmıştır. *P. tricornutum* için ise 0,10-0,12 µg/L arasında değişmiş, en yüksek toplam karotenoid miktarları kontrol gruplarında (S20-C ve P30-C) belirlenmiştir.

S. platensis'te bulunan fikosiyanin miktarının 157-312 mg/100g arasında, *P. tricornutum*'da fukoksantin miktarı ise 137-174,60 mg/100g arasında değişmiş ve en yüksek fikosiyanin ve fukoksantin miktarları kontrol örneklerinde belirlenmiştir.

Farklı tuz konsantrasyonlarında kültüre alınan *S. platensis* 30.günde, *P. tricornutum* denemesi ise 18.gün sonlandırılmış ve hasat edilmiştir. Elde edilen yaş biyokütleler dondurularak kurutulmuştur.

Tuz stresinin, kontrol grupları hariç, deney gruplarının toplam organik asit ve şeker içeriğinde azalmaya yol açtığı gözlenmiştir. *S. platensis* ve *P. tricornutum* örnekleri için asetik asit baskın organik asit olarak belirlenmiştir. *S. platensis* örnekleri için sakkaroz, *P. tricornutum* için ise glikoz baskın şekerler olmuştur. Glutamik asit *P. tricornutum* örneklerinde baskın amino asit iken, *S. platensis* örnekleri alanin, aspartik ve glutamik asitleri içermektedir. Büyüme ortamındaki tuz konsantrasyonları kontrol gruplarından daha yüksek veya daha düşük olduğunda toplam amino asit seviyeleri önemli ölçüde azalmıştır.

Dondurularak kurutulan *S. platensis*'in en yüksek toplam ham protein miktarı %55,33 ile S20-C grubunda belirlenmiştir. *P. tricornutum*'un protein içerikleri %21,72 ile %29,64 arasında değişmiş ve en yüksek protein miktarı kontrol örneğinde (P30-C) gözlenmiştir.

Besi ortamlarında tuz konsantrasyonlarının artmasının antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde içeriklerinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

Tuz konsantrasyonunun aroma maddeleri ile etkileşime girerek uçuculuklarını etkilemek suretiyle aroma üzerinde de bir etkisi olmuştur. Keskin bir kokuya sahip olan asetik asit, *P. tricornutum* örneklerinde bulunan en yaygın uçucu bileşik iken, bir hidrokarbon olan heptadekan, *S. platensis* örneklerinde baskın uçucu bileşikler olarak belirlenmiştir.

S. platensis ve *P. tricornutum* örneklerinde sırasıyla 24 ve 20 fenolik bileşik tanımlanmış ve LC-ESI-MS/MS ile miktarları belirlenmiştir. Tuz konsantrasyonundaki artışın toplam fenolik bileşik miktarını azalttığı gözlenmiştir. *S. platensis* örneklerinde baskın fenolik bileşik kuersetin türevi iken gallik asit, kateşin türevi, izoferulik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, kateşin, vanilik asit ve epikateşin bakımından önemli bir potansiyelde olduğu saptanmıştır. *P. tricornutum* ise örneklerinde baskın fenolik bileşik dimetoksiflavon iken örneklerin trans-sinamik asit, 4-hidroksisinamik asit, sinamik asit, dihidroksi dimetoksiflavon türevi, lutein ve diatoksantin bileşikleri bakımından da zengin olduğu belirlenmiştir.

Ağız, mide ve bağırsak olmak üzere üç aşamalı *in vitro* sindirim modelinden elde edilen üst faz örneklerinde antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde miktarındaki değişimler incelenmiş ve en yüksek değerler sırasıyla P30-C ve S20-C kontrol örneklerinde "bağırsak>mide>ağız" aşamalarında gözlenmiştir.

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, yetiştirme ortamına çeşitli tuz konsantrasyonları eklenerek elde edilen *S. platensis* örnekleri için $300-1,9 \times 10^4$ kob/g, *P. tricornutum* örnekleri için $300-2,78 \times 10^4$ kob/g olarak belirlenmiştir. Bu değerler, her iki türün yetiştirilmesi sırasında genel hijyen standartlarına uyulduğu anlamına gelmektedir.

Bu çalışmanın sonuçları, yüksek kaliteli alg biyokütlesi üretimi için optimum tuzluluk seviyeleri ve tuzun *S. platensis* ve *P. tricornutum* mikroalglerinin kimyasal bileşimi üzerindeki etkileri hakkında fikir vermektedir. Bu bulguların, bu alglerden yüksek kaliteli ve lezzetli ürünlerin üretimi için faydalı olacağına inanılmaktadır.



KAYNAKÇA

- Abd El-Baky, H. H., El Baz, F. K. ve El-Baroty, G. S. (2009). Production of phenolic compounds from *Spirulina maxima* microalgae and its protective effects. African Journal of Biotechnology, 8 (24), 7059-7067. doi:10.4314/AJB.V8I24.68794
- Adarme-Vega, T. C., Lim, D. K., Timmins, M., Vernen, F., Li, Y. ve Schenk, P. M. (2012). Microalgal biofactories: a promising approach towards sustainable omega-3 fatty acid production. Microbial Cell Factories, 11(1), 96. doi:10.1186/1475-2859-11-96
- Aguero, J., Lora, J., Estrada, K., Concepcion, F., Nunez, A., Rodriguez, A. ve Pino, J. A. (2003). Volatile components of a commercial sample of the blue-green algae *Spirulina platensis*. Journal of Essential Oil Research, 15(2), 114–117. doi:10.1080/10412905.2003.9712085
- Aiba, S., Ogawa, T. (1977). Assessment of growth yield of a blue-green alga: *Spirulina platensis* in axenic and continuous culture. The Journal of General Microbiology, 102, 179–82. doi:10.1099/00221287-102-1-179
- Al-Dhabi, N. A., ve Valan Arasu, M. (2016). Quantification of phytochemicals from commercial *Spirulina* products and their antioxidant activities. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1–13. doi: 10.1155/2016/7631864
- Alminger, M., Aura, A.M., Bohn, T., Dufour, C., El, S.N., Gomes, A., Karakaya, S., Martínez-Cuesta, M.C., McDougall, G.J. ve Requena, T. (2014). *In vitro* models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13, 413–436. doi:10.1111/1541-4337.12081.
- Amirul Alam, M., Juraimi, A. S., Rafii, M. Y., Hamid, A. A., Aslani, F. ve Alam, M. Z. (2015). Effects of salinity and salinity-induced augmented bioactive compounds in purslane (*Portulaca oleracea* L.) for possible economical use. Food Chemistry, 169, 439–447. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.08.019
- Andrade, K. A. M., Lauritano, C., Romano, G. ve Ianora, A. (2018). Marine microalgae with anti-cancer properties. Marine Drugs, 16(5):165. doi: 10.3390/Md16050165

Andrianasolo, E. H., Haramaty, L., Vardi, A., White, E., Lutz, R. ve Falkowski, P. (2008). Apoptosis-inducing galactolipids from a cultured marine diatom, *Phaeodactylum tricornutum*. *Journal of Natural Products*, 71, 1197–1201. doi: 10.1021/np800124k

AOAC. (1998). *Official Methods of Analysis of Association Official Analytical Chemists*, 15 Th. Edition, (Ed) Williams, S., Arlington, Virginia.

AOAC. (2007). *Official Methods of Analysis*. 18th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins c and e, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981. doi: 10.1021/jf048741x

Arnhold Pagnussatt, F., Medeiros Del Ponte, E., Garda-Buffon, J. ve Badiale-Furlong, E. (2014). Inhibition of *Fusarium graminearum* Growth and mycotoxin production by Phenolic Extract from *Spirulina* sp. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 108, 21–6. doi: 10.1016/j.pestbp.2013.11.002

Arranz, S., Silván, J. M. ve Saura- Calixto, F. (2010). Nonextractable polyphenols, usually ignored, are the major part of dietary polyphenols: a study on the spanish diet. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(11), 1646-1658. doi: 10.1002/mnfr.200900580

Asadi Shahmirzadi, A., Edgar, D., Liao, C.-Y., Hsu, Y.-M., Lucanic, M., Asadi Shahmirzadi, A. ve Lithgow, G. J. (2020). Alpha-ketoglutarate, an endogenous metabolite, extends lifespan and compresses morbidity in aging mice. *Cell Metabolism*, 32(3), 447–456. doi: 10.1016/j.cmet.2020.08.004

Aydi, S., Aydi, S., Ben Abdallah Kolsi, R., Haddeji, N., Rahmani, R., Ktari, N. ve Bouajila, J. (2020). CO₂ enrichment: enhancing antioxidant, antibacterial and anticancer activities in *Arthrospira platensis*, *Food Bioscience*, 35, 100575. doi: 10.1016/j.fbio.2020.100575

Bai, M. D., Cheng, C. H., Wan, H. M. ve Lin, Y. H. (2011). Microalgal pigments potential as byproducts in lipid production. *Journal of The Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 42(5): 783-786. doi: 10.1016/j.jtice.2011.02.003

Banskota, A. H., Sperker, S., Stefanova, R., McGinn, P. J. ve O’Leary, S. J. B. (2018). Antioxidant properties and lipid composition of selected microalgae. *Journal of Applied Phycology*. doi:10.1007/s10811-018-1523-1

Barrett, G. (Ed.). (2012). *Chemistry and biochemistry of the amino acids*. Springer Science & Business Media.

Bartual, A., Villazan, B. ve Brun, F. G. (2011). Monitoring the long-term stability of pelagic morphotypes in the model diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Diatom Research*, 26, 243–253. doi:10.1080/0269249X.2011.619365

Becker, W. (2004). Microalgae for Aquaculture: The nutritional value of microalgae for aquaculture. In: Richmond, A. (eds.): *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Oxford, 380-391.

Begum, H., Yusoff, F. M., Banerjee, S., Khatoon, H. ve Shariff, M. (2016). Availability and utilization of pigments from microalgae. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(13), 2209-2222. doi:10.1080/10408398.2013.764841

Bell, C., Neaves, P. ve Williams, A. P. (2005). *Food Microbiology and Laboratory Practice*. Blackwell Science, Oxford, 324.

Benmoussa-Dahmen, I., Chtourou, H., Rezgui, F., Sayadi, S. ve Dhouib, A. (2016). Salinity stress increases lipid, secondary metabolites and enzyme activity in *Amphora subtropica* and *Dunaliella* Sp. for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 218, 816–825. doi: 10.1016/j.biortech.2016.07.022

Bernaerts, T. M. M., Gheysen, L., Foubert, I., Hendrickx, M. E. ve Van Loey, A. M. (2019). The potential of microalgae and their biopolymers as structuring ingredients in food: A review. *Biotechnology Advances*, 37(8), 107419. doi: 10.1016/j.biotechadv.2019.107419

Bistgani, Z. E., Hashemi, M., Dacosta, M., Craker, L., Maggi, F. ve Morshedloo, M. R. (2019). Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis celak*. *Industrial Crops and Products*, 135, 311–320. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.04.055

- Blagojević, D., Babić, O., Rašeta, M., Šibul, F., Janjušević, L. ve Simeunović, J. (2018). Antioxidant activity and phenolic profile in filamentous cyanobacteria: The impact of nitrogen” *Journal of Applied Phycology*, 30(4), 2337–2346. doi:10.1007/s10811-018-1476-4
- Bolanho, B. C., Egea, M. B., Jacome, A. L. M., Campos, I., Carvalho, J.C.M. ve Danesi, E. D. G. (2014). Antioxidant and nutritional potential of cookies enriched with *Spirulina platensis* and sources of fiber. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53, 171–179.
- Bonsang, B., Gros, V., Peeken, I., Yassaa, N., Bluhm, K. ve Zoellner, E. (2010). Isoprene emission from phytoplankton monocultures: The relationship with chlorophyll-*a*, Cell Volume and Carbon Content, *Environmental Chemistry*, 7, 554–563. doi:10.1071/EN09156.
- Bourgou, S., Kchouk, M. E., Bellila, A. ve Marzouk, B. (2010). Effect of salinity on phenolic composition and biological activity of *Nigella sativa*. *Acta Horticulturae*, 853. doi:10.17660/ActaHortic.2010.853.5
- Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H. ve Marzouk, B. (2008). Phenolic composition and biological activities of tunisian *Nigella sativa* L., shoots and roots. *Comptes Rendus. Biologies*, 331, 48–55. doi: 10.1016/J.Crvi.2007.11.001.
- Boussiba, S. ve Richmond, A. (1979). Isolation and characterization of phycocyanin from the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Archives of Microbiology*, 120, 155-159.
- Boussiba, S., Fan, L. ve Vonshak, A. (1992). Enhancement and determination of astaxanthin accumulation in green alga *H. pluvialis*. *Methods in Enzymology*, 213, 386-391. doi:10.1016/0076-6879(92)13140-S
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 28, 25-30. doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., Pfander, H. (2004). Carotenoids, 1st ed.; Britton, G., Liaaen-Jensen, S., Pfander, H., Eds.; Birkhäuser Verlag: Basel, Switzerland.
- Brodkorb, A., Egger, L., Almingier, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R. ve Carrière, F. (2019). INFOGEST static in vitro

simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols* 14, 991–1014. doi:10.1038/S41596-018-0119-1

Buono, S., Langellotti, A. L., Martello, A., Rinna, F. ve Fogliano, V. (2014). Functional ingredients from microalgae. *Food & Function*, 5(8), 1669–1685. doi: 10.1039/c4fo00125g

Cai, J., Lovatelli, A., Aguilar-Manjarrez, J., Cornish, L. ve Dabbadie, L., Desrochers, A. ve Yuan, X. (2021). Seaweeds and microalgae: an overview for unlocking their potential in global aquaculture development. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular*, (1229).

Chen, Z., Yang, M., Li, C., Wang, Y., Zhang, J., Wang, D. ve Ge, F. (2014). Phosphoproteomic Analysis Provides Novel Insights into Stress Responses in *Phaeodactylum tricornutum*, a Model Diatom. *Journal of Proteome Research*, 13(5), 2511–2523. doi: 10.1021/pr401290u

Chethana, S., Nayak, C.A., Madhusudhan, M.C. ve Raghavarao, K. S. M. C. (2015). Single-step aqueous two-phase extraction for downstream processing of c-phycocyanin from *Spirulina platensis*. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 2415–2421. doi: 10.1007/s13197-014-1287-9

Choubey, S., Varughese, L.R., Kumar, V. ve Beniwal, V. (2015). Medicinal importance of gallic acid and its ester derivatives: A patent review. *Pharmaceutical Patent Analyst*, 4, 305–315. doi:10.4155/Ppa.15.14

Chronakis, I. S. ve Madsen, M. (2011). Algal proteins, handbook of food proteins. Amsterdam: Elsevier, 353–394. doi:10.1533/9780857093639.353

Chrysargyris, A., Loupasaki, S., Petropoulos, S. A. ve Tzortzakis, N. (2019). Salinity and cation foliar application: implications on essential oil yield and composition of hydroponically grown spearmint plants. *Scientia Horticulturae*, 256, 108581. doi: 10.1016/j.scienta.2019.108581

Cian, R.E., Drago, S.R., De Medina, F.S. ve Martínez-Augustin, O. (2015). Proteins and carbohydrates from red seaweeds: evidence for beneficial effects on gut function and microbiota. *Marine Drugs*, 13, 5358–5383. doi:10.3390/Md13085358.

Cilla, A., Bosch, L., Barbera', R. ve Alegr'ia, A. (2018). Effect of processing on the bioaccessibility of bioactive compounds: A review focusing on carotenoids, minerals, ascorbic acid, tocopherols and polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, 68, 3-15. doi: 10.1016/J.JFCA.2017.01.009

Cirik, Ş. ve Cirik, S. (2011). Su Bitkileri I-Deniz Bitkilerinin Biyolojisi, Ekolojisi ve Yetiştirme Teknikleri, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, 58, 135-145.

Colla, L. M., Reinehr, O. C., Reichert, C. ve Costa, J. A. (2007). Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under Different temperature and nitrogen regimes. *Bioresource Technology*, 98, 1489–1493. doi: 10.1016/j.biortech.2005.09.030

Contreras-Martel, C., Matamala, A., Bruna, C., Poo-Caamaño, G., Almonacid, D., Figueroa, M., Martínez-Oyanedel, J. ve Bunster, M. (2007). The structure at 2 resolutions of phycocyanin from *Gracilaria chilensis* and the energy transfer network in a PC-PC complex. *Biophysical Chemistry*, 125, 388–396. doi: 10.1016/j.bpc.2006.09.014

Costa, J. A. V., Colla, L. M. ve Filho, P. D. (2002). *Spirulina platensis* growth in open raceway ponds using fresh water supplemented with carbon, nitrogen, and metal ions. *Z. Naturforsch*, 58c, 76-80. doi: 10.1515/znc-2003-1-214

Cuellar-Bermúdez, S. P., Barba-Davila, B., Serna-Saldivar, S. O., Parra-Saldivar, R., Rodriguez-Rodriguez, J., Morales-Davila, S. ve Chuck-Hernández, C. (2017). Deodorization of *Arthrospira platensis* biomass for further scale-up food applications. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 97(15), 5123–5130. doi: 10.1002/jsfa.8391

Dalay, M. C., Cirik, S. ve Kuru, E. (2001). Türkiye Ege Bölgesi iklim koşullarında açık hava kültürleri için uygun *Spirulina platensis* (Stiz.) Geitl, 1930 suşunun tespiti. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 18(3-4): 523-528.

Dalay, M. C., İmamoğlu, E. ve Öncel, S. (2008). Mikroalgal biyokütle üretimi için düşük maliyetli fotobiyoreaktör tasarımı. TÜBİTAK MAG Proje 104M354, 1-102.

Davies, K. J. A. (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, 50, 279-289. doi: 10.1080/713803728

De Jesus, C. S., Da Silva Uebel, L., Costa, S. S., Miranda, A. L., De Moraes, E. G., De Moraes, M. G. ve Druzian, J. I. (2018). Outdoor pilot-scale cultivation of *Spirulina* Sp. LEB-18 in different geographic locations for evaluating its growth and chemical composition. *Bioresource Technology*, 256, 86–94. doi: 10.1016/j.biortech.2018.01.149

De La Rosa, L. A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J. ve Alvarez-Parrilla, E. (2019). Phenolic compounds. In E. M. Yahia & A. Carrillo-Lopez (Eds.), *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (Pp. 253–271). Woodhead Publishing.

De Martino, A., Bartual, A., Willis, A., Meichenin, A. ve Villazan, B. (2011). Physiological and molecular evidence that environmental changes elicit morphological interconversion in the model diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Protist*, 162, 462–481. doi: 10.1016/j.protis.2011.02.002

De Martino, A., Meichenin, A., Shi, J., Pan, K. ve Bowler, C. (2007). Genetic and phenotypic characterization of *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae) accessions. *Journal of Phycology*, 43(5), 992–1009. doi: 10.1111/j.1529-8817.2007. 00384.x

Dembitsky, V.M. ve Maoka, T. (2007). Allenic and cumulenenic lipids. *Progress in Lipid Research*, 46, 328–375. doi: 10.1016/j.plipres.2007.07.001

El Gamal, A. A. (2010). Biological importance of marine algae. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 18, 1–25. doi: 10.1016/j.jsps.2009.12.001

El-Baz, F. K., El-Senousy, W. M., El-Sayed, A. B. ve Kamel, M. M. (2013). In vitro antiviral and antimicrobial activities of *Spirulina platensis* extract. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3 (12), 52-56.

El-Baz, F., Abdel-Jaleel, G. A., Saleh, D. O. ve Hussein, R. A. (2018). Protective and therapeutic potentials of *Dunaliella salina* on Aging-associated cardiac dysfunction in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8, 403.

Elloumi, W., Jebali, A., Maalej, A., Chamkha, M. ve Sayadi, S. (2020). Effect of mild salinity stress on the growth, fatty acid and carotenoid compositions, and biological activities of the thermal freshwater microalgae *Scenedesmus* Sp. *Biomolecule*, 10, 1515. doi:10.3390/Biom10111515.

Eom, S. H., Kim, Y. M. ve Kim, S. K. (2012). Antimicrobial effect of phlorotannins from marine brown algae. *Food and Chemical Toxicology*, 50(9), 3251-5. doi: 10.1016/j.fct.2012.06.028

Erdin, N., Erdin, E. (2016). Mikroalglerin besin kaynağı olarak değerlendirilmesi. <http://web.deu.edu.tr/erdin/pubs/doc139.htm>, Erişim:13.10.2016.

Eriksen, N. T. (2008). Production of phycocyanin – a pigment with applications in biology, Biotechnology, Foods and Medicine. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80, 1-14. doi: 10.1007/s00253-008-1542-y

Esquivel-Hernández, D.A., Rodríguez-Rodríguez, J., Rostro-Alanis, M., Cuéllar-Bermúdez, S.P., Mancera-Andrade, E.I., Núñez-Echevarría, J.E. ve Parra-Saldívar, R. (2017). Advancement of green process through microwave-assisted extraction of bioactive metabolites from *Arthrospira platensis* and bioactivity evaluation. *Bioresource Technology*, 224, 618–629. doi: 10.1016/J.Biortech.2016.10.061

F. A. O. (2008). A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish, ed. M. A. B Habib, M. Parvin, T. C. Huntington and M. R. Hasan, FAO Fisheries and Aquaculture Circular. no. 1034. Rome, FAO. 2008. p. 33.

FAO. (2021). Fishery and Aquaculture Statistics. Global Production Statistics 1950– 2019. In: FAO Fisheries Division [online]. FishStaJ – Software for Fishery and Aquaculture Statistical Time Series. <https://www.fao.org/fishery/en/statistics/software/fishstatj/en>

Fajardo, A.R., Cerdan, L.E., Medina, A.R., Fernández, F.G.A., Moreno, P.A.G. ve Grima E.M. (2007). Lipid extraction from the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, 120-6. doi:0.1002/ejlt.200600216

Falkowski, P. G., Barber, R. T. ve Smetacek, V. (1998). Biogeochemical controls and feedbacks on ocean primary production. *Science*, 281(5374), 200–206. doi: 10.1126/science.281.5374.200

Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I. ve Pérez-Gálvez, A. (2009). In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutrient efficiency. *Nutrition Research*, 29, 751-760. doi: 10.1016/j.nutres.2009.09.016

Fernández-Sevilla, J.M., Acién Fernández, F.G. ve Molina Grima, E. (2010). Biotechnological Production of lutein and its applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86, 27–40. doi: 0.1007/S00253-009-2420-Y.

Ferreres, F., Lopes, G., Gil-Izquierdo, A., Andrade, P. B., Sousa, C., Mouga, T. ve Valentão, P. (2012). Phlorotannin extracts from Fucales characterized by HPLC-DAD-ESI-Msn: Approaches to hyaluronidase inhibitory capacity and antioxidant properties. *Marine Drugs*, 10, 2766-2781. doi: 10.3390/md10122766

Ferroni, L., Baldisserotto, C., Pantaleoni, L., Billi, P., Fasulo, M.P. ve Pancaldi, S. (2007). High salinity alters chloroplast morpho-physiology in a fresh water *Kirchneriella* species (*Selenastraceae*) from Ethiopian Lake Awasa. *American Journal of Botany*, 94(12), 1972-1983.

Foo, S. C., Yusoff, F. M., Ismail, M., Basri, M., Yau, S. K., Khong, N. M. H. ve Ebrahimi, M. (2017). Antioxidant Capacities of fucoxanthin-producing algae as influenced by their carotenoid and phenolic contents. *Journal of Biotechnology*, 241, 175–183. doi: 10.1016/j.jbiotec.2016.11.026

Fox, D. (1996). *Spirulina: Production and potential*. Pub. by Editions Edisud, La Calade, R.N.7, 13090 Aix-En-Provence, FRANCE, 232.

Fradique, M., Batista, A. P., Nunes, M. C., Gouveia, L., Bandarra, N. M. ve Raymundo, A. (2010). Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part 1: Preparation and Evaluation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(10), 1656-1664. doi: 10.1002/Jsfa.3999

Gabr, G. A., El-Sayed, S. M. ve Hikal, M. S. (2020). Antioxidant activities of phycocyanin: bioactive compound from *Spirulina platensis*, *Journal of Pharmaceutical Research International*, 32(2), 73-85. doi: 10.9734/jpri/2020/v32i230407

Gao, X., Feng, T., Liu, E., Shan, P., Zhang, Z., Liao, L. ve Ma, H. (2020). Ougan juice debittering using ultrasound-aided enzymatic hydrolysis: impacts on aroma and taste, *Food Chemistry*, 345, 128767. doi: 10.1016/J.Foodchem.2020.128767

Gelzinis, A., Butkus, V., Songaila, E., Augulis, R., Gall, A., Büchel, C., Robert, B., Abramavicius, D., Zigmantas, D. ve Valkunas, L. (2015). Mapping energy transfer channels

in fucoxanthin-chlorophyll protein complex. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1847, 241–247. doi: 10.1016/j.bbabi.2014.11.004

Genovese, A., Caporaso, N., Luca, L., Paduano, A. ve Sacchi, R. (2015). Influence of olive oil phenolic compounds on headspace aroma release by interaction with whey proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 3838–3850. doi: 10.1021/acs.jafc.5b00148

German-Báez, L., Valdez-Flores, M., Félix-Medina, J., Norzagaray-Valenzuela, C., Santos-Ballardo, D., Reyes-Moreno, C. ve Valdez-Ortiz, A. (2017). Chemical composition and physicochemical properties of *Phaeodactylum tricornutum* microalgal residual biomass. *International Journal of Food Science & Technology*, 23, 681–689. doi:10.1177/1082013217717611.

Goiris, K., Muylaert, K., Voorspoels, S., Noten, B., De Paepe, D., E Baart, G. J. ve De Cooman, L. (2014). Detection of flavonoids in microalgae from different evolutionary lineages. *Journal of Phycology*, 50(3), 483–492. doi: 10.1111/jpy.12180

Gökpinar, Ş. (1980). Deniz diatomu *Phaeodactylum tricornutum* BOHLIN'un Kültürü üzerine gözlemler. TUBİTAK VII. BilimKongresi, Kuşadası, Aydın: 827-840.

Gökpinar, Ş., Işık, O., Göksan, T., Durmaz, Y., Uslu, L., Ak, B., Önalın, S. K., Akdoğan, P. (2013). Algal biyoteknoloji çalışmaları. *Yunus Araştırma Bülteni*, (4), 21-26.

Goldman, J. C., Riley, C. B., & Dennett, M. R. (1982). The Effect of pH in intensive microalgal cultures, II. species competition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 57(1), 15–24.

Golmakani, M. T., Moosavi-Nasab, M., Keramat, M., Mohammadi, M.A. (2018). *Arthrospira platensis* extract as a natural antioxidant for improving the oxidative stability of common Kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) oil. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18, 1315–1323. doi: 10.1016/J.Crvi.2007.11.001

Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B. ve Givskov, M. (2002). Food spoilage interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78(1-2), 79–97. doi:10.1016/S0168-1605(02)00233-7

Granado-Lorencio, F., Herrero-Barbudo, C., Acie'N-Ferna'Ndez, G., Molina-Grima, E., Ferna'Ndez- Sevilla, J. M., Pe'Rez-Sacrista'N, B. ve Blanco-Navarro, I. (2009). In vitro bioaccessibility of lutein and zeaxanthin from the microalgae *Scenedesmus almeriensis*. Food Chemistry, 114, 747-752. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.10.058

Green, B. R. (2011). After the primary endosymbiosis: An update on the chromalveolate hypothesis and the origins of algae with Chl-c. Photosynthesis Research, 107, 103–115.

Guedes, A. C., Meireles, L. A., Amaro, H. M. ve Malcata, F. X. (2010). Changes in lipid class and fatty acid composition of cultures of *Pavlova lutheri*, in response to light intensity. Journal of The American Oil Chemists' Society, 87, 791–801. doi:10.1007/s11746-010-1559-0

Gurtler, J. B. ve Mai, T. L. (2014). Preservatives | traditional preservatives – Organic acids. Encyclopedia of Food Microbiology, 119–130. Doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00260-3

Halkman, K. (2005). Gıda mikrobiyolojisi uygulamaları. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara.

Haoujar, I., Cacciola, F., Abrini, J., Mangraviti, D., Giuffrida, D., Oulad El Majdoub, Y. ve Skali Senhaji, N. (2019). The contribution of carotenoids, phenolic compounds, and flavonoids to the antioxidative properties of marine microalgae isolated from mediterranean Morocco. Molecules, 24(22), 4037. doi: 10.3390/molecules24224037

Harada, K.I., Ozaki, K., Tsuzuki, S., Kato, H., Hasegawa, M., Kuroda, E.E., Arie, S. ve Tsuji, K. (2009). Blue color formation of cyanobacteria with β -cyclocitral. Journal Chemical Ecology, 35(11), 1295-1301. doi:10.1007/s10886-009-9706-5

Harrigan, W. F. (1998). Laboratory methods in food microbiology. Academic Press, California.

Hasler, C. M. (2000). Plants as Medicine: The role of phytochemicals in optimal health. In Phytochemicals and Phytopharmaceuticals, Edited By F. Shahidi And C.- T. Ho, Pp. 1-12. Champaign, Illinois: AOAC Press.

Haugan, J. A., Aakermann, R. ve Liaaen-Jensen, S. (1992) Isolation of fucoxanthin and peridinin. Methods in Enzymology, 213, 231-245.

He, L., Han, X. ve Yu, Z. (2014). A Rare *Phaeodactylum tricornutum* cruciform morphotype: culture conditions, transformation, and unique fatty acid characteristics. PLoS One, 9 (4). doi: 10.1371/journal.pone.0093922

Heffernan, N., Brunton, N. P., FitzGerald, R. J. ve Smyth, T. J. (2015). Profiling of the molecular weight and structural isomer abundance of macroalgae-derived phlorotannins. Marine Drugs, 13, 509-528. doi:10.3390/md13010509

Henrikson, R. (2000). Earth food *Spirulina*: essential fatty acids and phytonutrients. Ronore enterprises. Inc., Laguna Beach.

Hernández-Ledesma, B. ve Herrero, M. (2013). Bioactive compounds from marine foods: plant and animal sources. John Wiley & Sons: Madrid, Spain, ISBN 1-118-41287-7. doi:10.1002/9781118412893.ch13

Hongsthong, A. ve Bunnag, B. (2009). Overview of *Spirulina*: biotechnological, biochemical and molecular biological aspects. Percy M. Gault & Harris J. Marler (Ed.). Handbook on Cyanobacteria: Biochemistry, Biotechnology and Applications. Nova Science Publishers, Inc., New York.

Horrobin, D. F. (1992). Nutritional and medical importance of gamma-linolenic acid. Progress in Lipid Research, 31(2), 163–194.

Hu, T., Liu, D., Chen, Y. W. J. ve Wang, S. (2010). Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Undaria pinnatifida* in vitro. International Journal of Biological Macromolecules, 46:193–8. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2009.12.004

İlter, I., Akyıl, S., Koç, M. ve Kaymak-Ertekin, F. (2017). Alglerden elde edilen ve gıdalarda doğal renklendirici olarak kullanılan pigmentler ve fonksiyonel özellikleri. Türk Tarım Gıda Bil Tekn Dergisi, 5(12):1508-15,

İşleten Hoşoğlu, M. (2018). Study of Increasing the Production of Volatile Flavor Compounds by the Yeast *Kluyveromyces marxianus* through optimization of carbon and nitrogen sources. Food and Health, 4(2), 112-123. doi: 10.3153/fh18011

Ianora, A., Boersma, M., Casotti, R., Fontana, A., Harder, J., Hoffmann, F., Pavia, H., Potin, P., Poulet, S. A. ve Toth, G.. (2006). New trends in marine chemical ecology. Estuaries and Coasts, 29(4), 531–551. doi:10.1007/bf02784281

Ishika, T., Moheimani, N. R., Bahri, P. A., Laird, D. W., Blair, S. ve Parlevliet, D. (2017). Halo-adapted microalgae for fucoxanthin production: effect of incremental increase in salinity. *Algal Research*, 28, 66–73. doi: 10.1016/j.algal.2017.10.002

Islam, M. Z., Park, B. J. ve Lee, Y. T. (2019). Effect of salinity stress on bioactive compounds and antioxidant activity of wheat microgreen extract under organic cultivation conditions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140, 631-636. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.090

Ismail, M. M. S., El-Ayouty, Y. M. ve Piercey-Normore, M. (2016). Role of pH on antioxidants production by *Spirulina (Arthrospira) platensis*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(2), 298–304. doi: 10.1016/j.bjm.2016.01.003

Ismail, M. M. S. ve Piercey- Normore, M. D. (2020). Gene transcription and antioxidants production in *Arthrospira (Spirulina) platensis* grown under temperature variation. *Journal of Applied Microbiology*. doi: 10.1111/jam.14821

Johnson, M. P. (2016). Photosynthesis. *Essays in Biochemistry*, 60(3), 255–273.

Kawee-Ai, A., Kuntiya, A. ve Kim, S. M. (2013). Anticholinesterase and Antioxidant activities of fucoxanthin purified from the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. *Natural Product Communications*, 8(10). doi:10.1177/1934578x1300801010

Kelebek, S. (2011). Determination of volatile, phenolic, organic acid and sugar components in a Turkish Cv. Dortyol (*Citrus sinensis* L. Osbeck) orange juice. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 91(10), 1855–1862. doi: 10.1002/jsfa.4396

Kelebek, H., Jourdes, M., Selli, S. ve Teissedre, P. L. (2013). Comparative evaluation of the phenolic content and antioxidant capacity of sun-dried raisins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(12), 2963–2972. doi: 10.1002/jsfa.6125

Keskin, M., Guclu, G., Sekerli, Y. E., Soysal, Y., Selli, S. ve Kelebek, H. (2021). Comparative assessment of volatile and phenolic profiles of fresh black carrot (*Daucus carota* L.) and powders prepared by three drying methods, *Scientia Horticulturae*, 287, 110256. doi: 10.1016/j.scienta.2021.110256

Khawli, F. A., Martí-Quijal, F. J., Pallarés, N., Barba, F. J. ve Ferrer, E. (2021). Ultrasound extraction mediated recovery of nutrients and antioxidant bioactive compounds from

Phaeodactylum tricornutum microalgae. Applied Sciences, 11, 1701. doi:10.3390/App11041701.

Kim, J. S., Kang, O. J. ve Gweon, O. C. (2013). Comparison of phenolic acids and flavonoids in black garlic at different thermal processing steps. Journal of Functional Foods, 5(1), 80–86. doi: 10.1016/j.jff.2012.08.006

Kim, S. M., Kang, S. W., Kwon, O., Chung, D. ve Pan, C. H. (2012). Fucoxanthin as a major carotenoid in *Isochrysis aff. galbana*: characterization of extraction for commercial application. Journal of The Korean Society for Applied Biological Chemistry, 55(4), 477–483. doi:10.1007/s13765-012-2108-3

Kim, Y. S. ve Lee, S. H. (2018). Quantitative analysis of *Spirulina platensis* growth with CO₂ mixed aeration. Environmental Engineering Research, 23(2), 216–222. doi:10.4491/eer.2017.193

Klejdeus, B., Kopecký, J., Benešová, L. ve Vacek, J. (2009). Solid-phase/supercritical-fluid extraction for liquid chromatography of phenolic compounds in freshwater microalgae and selected cyanobacterial species. Journal of Chromatography A, 1216 (5), 763–771. doi: 10.1016/j.chroma.2008.11.096

Kölker, S. (2014). Organic acid disorders. Encyclopedia of The Neurological Sciences, 688–693.

Krishna Koyande, A., Chew, K. W., Rambabu, K., Tao, Y., Chu, D. T. ve Show, P. L. (2019). Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. Food Science and Human Wellness. Doi: 10.1016/j.fshw.2019.03.001

Kuatrakul, I., Kuarthongsri, P., Yabuuchi, C., Somsai, K. ve Utama-Ang, N. (2017). Sensory descriptive analysis and physicochemical properties of *Spirulina platensis* from different drying processes: hot air drying and microwave vacuum drying. Current Journal of Applied Science and Technology, 17, 191–199. doi:10.55003/Currapplscitechnol.2017.128496.

Kuddus, M., Singh, P., Thomas, G. ve Ali, A. (2015). Production of C-phycocyanin and its potential applications. Biotechnology of Bioactive Compounds, 283–299. doi:10.1002/9781118733103.ch12

- Kwak H. W., Kang M. J., Bae J. H., Hur S. B., Kin I. S., Park Y. H. ve Lee K. H. (2014). Fabrication of *Phaeodactylum tricornutum* extract loaded gelatin nanofibrous mats exhibiting antimicrobial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 63,198-204. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.11.004
- Landete, J. M. (2013). Dietary intake of natural antioxidants: vitamins and polyphenols. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 706–721.
- Le Costaouec, T., Unamunzaga, C., Mantecon, L. ve Helbert, W. (2017). New Structural insights into the cell-wall polysaccharide of the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Algal Research-Biomass Biofuels Bioproducts*, 26, 172–179. doi: 10.1016/j.algal.2017.07.021
- Le Goff, M., Le Ferrec, E., Mayer, C., Mimouni, V., Lagadic-Gossmann, D., Schoefs, B. ve Ulmann, L. (2019). Microalgal carotenoids and phytosterols regulate biochemical mechanisms involved in human health and disease prevention. *Biochimie*. doi: 10.1016/j.biochi.2019.09.012
- Lim, J.H., Park, K.J., Kim, B.-K., Jeong, J.-W. ve Kim, H.J. (2012). Effect of Salinity stress on phenolic compounds and carotenoids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprout. *Food Chemistry*, 135(3), 1065–1070. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.05.068
- López, M. C. G.-M., Sánchez, E. D. R., López, J. L. C., Fernández, F. G. A., Sevilla, J. M. F., Rivas, J. ve Grima, E. M. (2006). Comparative analysis of the outdoor culture of *Haematococcus pluvialis* in tubular and bubble column photobioreactors. *Journal of Biotechnology*, 123(3), 329–342.
- López-Berenguer, C., Martínez-Ballesta, M. Del C., Moreno, D. A., Carvajal, M. veGarcía-Viguera, C. (2009). Growing Hardier crops for better health: salinity tolerance and the nutritional value of broccoli. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2), 572–578.
- Lupatini AL, Colla LM, Canan C. ve Colla E. (2017). Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 724-732. Doi: 10.1002/Jsfa.7987. Epub 2016 Sep 12. PMID: 27507218.
- Markou G. ve Georgakakis, D. (2011). Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A Review. *Applied Energy*, 88(10), 3389–3401.

Martelli, F., Cirilini, M., Lazzi, C., Neviani, E. ve Bernini, V. (2020). Edible seaweeds and *Spirulina* extracts for food application: in vitro and in situ evaluation of antimicrobial activity towards foodborne pathogenic bacteria. *Foods*, 9, 1442. doi:10.3390/Foods9101442.

Mathur, M. (2018). Bioactive molecules of *Spirulina*: A food supplement. *Bioactive Molecules in Food*, 1-22.

Mazo, V. K., Gmoshinskiĭ, I. V. ve Zilova, I. S. (2004). Microalgae *Spirulina* in human nutrition. *Voprosy Pitaniia*, 73(1) 45-53.

Meinesz, A. (2010). Yaşam Nasıl Başladı – Evrimin Üç Kökeni. Ankara, ODTÜ Yayıncılık.

Mercadante, A. Z. (2008) Carotenoids in foods: sources and stability during processing and storage. in food colorants: chemical and functional properties. Carmen S. (Ed.). CRC Press Inc., Boca Raton, 213-240.

Milovanović, I., Mišan, A., Simeunović, J., Kovač, D., Jambrec, D. ve Mandić, A. (2015). Determination of volatile organic compounds in selected strains of cyanobacteria. *Journal of Chemistry*, 2015, 1–6. Doi:10.1155/2015/969542

Min, J., Shen, H., Xi, W., Wang, Q., Yin, L., Zhang, Y. ve Wang, Z.N. (2018). Synergistic Anticancer activity of combined use of caffeic acid with paclitaxel enhances apoptosis of non-small-cell lung cancer H1299 cells in vivo and in vitro. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 48, 1433–1442. Doi:10.1159/000492253.

Misurcova', L., Orsavova', J. ve Ambrozova' J. V. (2015). Algal polysaccharides and health. Ramawat, K. G., & Mérillon, J.M. (eds) *Polysaccharides*. Springer International Publishing Switzerland, 109-114.

Miyashita, K., Nishikawa, S., Bepp, F., Tsukui, T., Abe, M. ve Hosokawa, M. (2011). The allenic carotenoid fucoxanthin, a novel marine nutraceutical from brown seaweeds. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 91(7), 1166-7.

Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water Stress. *Plant, Cell and Environment*, 25(2), 239–250.

Nakamura, Y., Takahashi, J. I., Sakurai, A., Inaba, Y., Suzuki, E., Nihei, S., Fujiwara, S., Tsuzuki, M., Miyashita, H., Ikemoto, H., Kawachi, M., Sekiguchi H. ve Kurano, N. (2005).

Some cyanobacteria synthesize semiamylopectin type apolyglucans instead of glycogen. *Plant and Cell Physiology*, 46(3), 539–545.

Nayak, B., Liu, R. H. ve Tang, J. (2015). Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains-a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(7), 887-918.

Neumann, U., Derwenskus, F., Flaiz Flister, V., Schmid-Staiger, U., Hirth, T. ve Bischoff, S. (2019). Fucoxanthin, a carotenoid derived from *Phaeodactylum tricornutum* exerts antiproliferative and antioxidant activities *in Vitro*. *Antioxidants*, 8(6), 183.

Neumann, U., Louis, S., Gille, A., Derwenskus, F., Schmid-Staiger, U., Briviba, K. ve Bischoff, S. C. (2018). Anti-inflammatory effects of *Phaeodactylum tricornutum* extracts on human blood mononuclear cells and murine macrophages”, *Journal of Applied Phycology*.

Newsted, J. L. (2004). Effect of light, temperature, and ph on the accumulation of phenol by *Selenastrum capricornutum*, a green alga. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59:237–243.

Nouri, E. ve Abbasi, H. (2018). Effects of different processing methods on phytochemical compounds and antioxidant activity of *Spirulina platensis*. *Applied Food Biotechnology*, 5(4), 221-232.

Nunes, M., Graca, C., Vlasisavljevic, S., Tenreiro, A., Sousa, I. ve Raymundo, A. (2020). Microalgal cell disruption: effect on the bioactivity and rheology of wheat bread. *Algal Research*, 45, 101749. Doi: 10.1016/J.Algal.2019.101749.

Ochoa Becerra, M., Mojica Contreras, L., Hsieh Lo, M., Mateos Díaz, J. ve Castillo Herrera, G. (2020). Lutein as a functional food ingredient: stability and bioavailability. *Journal of Functional Foods*, 66, 103771. doi:10.1016/J.Jff.2019.103771.

Özdemir, G., Ülkü Karabay, N., Dalay, M. C. ve Pazarbaşı, B. (2004) Antibacterial activity of volatile component and various extracts of *Spirulina platensis*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(9), 754-757.

Papagianni, M. (2011). Organic acids. *Comprehensive Biotechnology*, 109–120.

Parida, A. K. ve Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on Plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349.

Park, W. S., Kim, H. J., Li, M., Lim, D. H., Kim, J., Kwak, S. S., Kang, C. M., Ferruzzi, M. G. ve Ahn, M. J. (2018). Two classes of pigments, carotenoids and C-phycocyanin, in *Spirulina* powder and their antioxidant Activities. *Molecules* (Basel, Switzerland), 23(8), 2065.

Parniakov, O., Apicella, E., Koubaa, M., Barba, F.J., Grimi, N., Lebovka, N., Pataro, G., Ferrari, G. ve Vorobiev, E. (2015). Ultrasound-assisted green solvent extraction of high-added value compounds from microalgae *Nannochloropsis* spp. *Bioresource Technology*, 198, 262–267. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.020>.

Parsons, T. R. ve Strickland, J. D. H. (1963). Discussion of spectrophotometric determination of marine plant pigments, with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. *Journal of Marine Research*, 21(3):115-163.

Patron, N. J. ve Keeling, P. J. (2005) Common evolutionary origin of starch biosynthetic enzymes in green and red algae. *Journal of Phycology*, 41, 1131–1141.

Peng, J., Yuan, J. P., Wu, C. F. ve Wang, J. H. (2011). Fucoxanthin, a marine carotenoid presents in brown seaweeds and diatoms: metabolism and bioactivities relevant to human health. *Marine Drugs*, 9 (10): 1806-1828.

Pereira, L. ve Magalhaes, J. (2014). *Neto, marine algae, biodiversity, taxonomy, environmental assessment, and biotechnology*. CRC Press, 2014.

Perez E. B., Pina I. C. ve Rodriguez P. (2008). Kinetic model for growth of *Phaeodactylum tricornutum* in intensive culture photobioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 40(3), 520-525.

Petretto, G. L., Urgeghe, P. P., Massa, D. ve Melito, S. (2019). Effect of salinity (NaCL) on plant growth, nutrient content, and glucosinolate hydrolysis products trends in rocket genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry*.

Pimentel, D. ve Pimentel, M. (2003). Sustainability of meat-based and plant-based diets and the environment. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78, 660–663.

Pina-Pérez, M. C., Rivas, A., Martínez, A. ve Rodrigo, D. (2017). Antimicrobial potential of macro and microalgae against pathogenic and spoilage microorganisms in food. Food Chemistry, 235, 34-44, 2017.

Piñero Estrada, J., Bermejo Besco's, P. ve Villar del Fresno, A. M. (2001). Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protein extract. Il Farmaco, 56(5-7), 497–500.

Prestegard, S., Erga, S., Steinrücken, P., Mjøs, S., Knutsen, G. ve Rohloff, J. (2015). Specific metabolites in a *Phaeodactylum tricornutum* strain isolated from western norwegian fjord water. Marine Drugs, 14(1), 9.

Pyne, P. K., Bhattacharjee, P. ve Srivastav, P. P. (2017). Microalgae (*Spirulina platensis*) and its bioactive molecules: review. Indian Journal of Nutrition, 4(2), 160.

Raghavan, G., Haridevi, C.K. ve Gopinathan, C.P. (2008). Growth and proximate composition of the *Chaetoceros calcitrans* F. Pumilus under different temperature, salinity, and carbon dioxide levels. Aquaculture Research, 39:1053-1058.

Rasmussen, R. S. ve Morrissey, M. T. (2007). Marine Biotechnology for production of food ingredients. Advances in Food and Nutrition Research, 52, 237-292.

Ravi, M., Lata Da, S., Azharuddin, S. ve Paul, S. F. D. (2010). The Beneficial effects of *Spirulina* focusing on its immunomodulatory and antioxidant properties. Nutrition and Dietary Supplements, 2, 73-83.

Reboloso-Fuentes, M. M., Navarro-Perez, A., Ramos-Miras, J. J. ve Guil-Guerrero, J. L. (2000). Biomass nutrient profiles of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. Journal of Food Biochemistry, 25, 57-76.

Rein, M. J., Renouf, M., Cruz-Hernandez, C., Actis-Goretta, L., Thakkar, S. K. ve Da Silva Pinto, M. (2013). Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy. British Journal of Clinical Pharmacology, 75(3), 588-602.

Rezazadeh, A., Ghasemnezhad, A., Barani M. ve Telmadarrehei, T. (2012). Effect of salinity on phenolic composition and antioxidant activity of artichoke (*Cynara scolymus* L.) Leaves. Research Journal of Medicinal Plants, 6, 245-252.

Richmond, A. (1986). Outdoor mass cultures of microalgae. (A. Richmond Editör). Handbook of Microalgal Mass Cultures of Microalgae. CRC Press, INC. Boca Raton, Florida. 285-329.

Richmond, A. (2004). Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phyecology. 444.

Rico, M., López, A., Santana-Casiano, J. M., Gonzàlez, A. G. ve Gonzàlez-Dàvila, M. (2012). Variability of the phenolic profile in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* growing under copper and iron stress. Limnology and Oceanography, 58(1), 144–152.

Saafi, E. B., El Arem, A., Issaoui, M., Hammami, M. ve Achour, L. (2009). Phenolic Content and Antioxidant Activity of Four Date Palm (*Phoenix dactylifera*.) fruit varieties grown in Tunisia. International Journal of Food Science & Technology, 44(11), 2314–2319.

Sachindra, N.M., Sato, E., Maeda, H., Hosokawa, M., Niwano, Y., Kohno, M. ve Miyashita, K. (2007). Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of marine carotenoid fucoxanthin and its metabolites. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 8516-8522.

Safafar, H., Van Wagenen, J., Møller, P. ve Jacobsen, C. (2015). Carotenoids, phenolic compounds and tocopherols contribute to the antioxidative properties of some microalgae species grown on industrial wastewater. Marine Drugs, 13, 7339–7356.

Said-Al Ahl, H., Meawad, A.A., Abou-Zeid E. N. ve Ali, M.S. (2010). Response of different basil varieties to soil salinity. International Agrophysics, 24(2), 183-188.

Salvamani, S., Gunasekaran, B., Shaharuddin, N.A., Ahmad, S. A. ve Shukor, M. Y. (2014). Antiatherosclerotic effects of plant flavonoids. BioMed Research International, 480258. doi:10.1155/2014/480258.

Samarakoon K. ve Jeon, Y. J. (2012). Bio-functionalities of proteins derived from marine algae-A review. Food Research International, 48, 948–960.

Santiago-Santos, M.C., Ponce-Noyola, T., Olvera-Ramírez, R., Ortega-López, J. ve Cañizaresvillanueva, R.O. (2004). Extraction and purification of phycocyanin from *Calothrix* Sp. Process Biochemistry, 39, 2047–2052.

Sarada, D. V., Kumar, C. S. ve Rengasamy, R. (2011). Purified C-Phycocyanin from *Spirulina platensis* (Nordstedt) Geitler: A novel and potent agent against drug-resistant bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(4), 779–783.

Saranraj, P. ve Sivasakthi, S. (2014). *Spirulina platensis* food for future: A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology*, 4 (1), 26-33.

Saura-Calixto, F. (2012). Concept and health related properties of nonextractable polyphenols: the missing dietary polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(45), 11195-11200.

Scaglioni, P. T., Quadros, L., de Paula, M., Furlong, V. B., Abreu, P. C. ve Badiale-Furlong, E. (2018). Inhibition of enzymatic and oxidative processes by phenolic extracts from *Spirulina* sp. and *Nannochloropsis* sp. *Food Technology and Biotechnology*, 56 (3), 344-353.

Schagerl, M. ve Müller, B. (2006). Acclimation of chlorophyll a and carotenoid levels to different irradiances in four freshwater cyanobacteria. *Journal of Plant Physiology*, 163(7), 709–716.

Seghiri, R., Kharbach, M. ve Essamri, A. (2019). Functional composition, nutritional properties, and biological activities of moroccan *Spirulina* microalga. *Journal of Food Quality*, 2019, 1–11. doi:10.1155/2019/3707219

Se-Kwon, K. ve Kyong-Hwa, K. (2011). Medicinal effects of peptides from marine microalgae. *Advances in Food and Nutrition Research*, 25, 64.

Selli, S., Canbas, A., Varlet, V., Kelebek, H., Prost, C. ve Serot, T. (2008). Characterization of the most odor-active volatiles of orange wine made from a Turkish Cv. Kozan (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(1), 227–234.

Şen Genç, C. (2019). *Spirulina*'nın toplam fenolik bileşenlerinin, antioksidan kapasitesinin ve antioksidan bileşenlerin biyoalınabilirliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 104, Bursa.

Shahidi, F. ve Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages, and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820- 897.

Shahidi, F. ve Yeo, J. (2016). Insoluble-bound phenolics in food. *Molecules*, 21(9), 1216.

Shalaby, E. A., Shanab, S. M. M. ve Singh, V. (2010). Salt stress enhancement of antioxidant and antiviral efficiency of *Spirulina platensis*, *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (24), 2622-2632.

Souza, M.M., Prieto, L., Ribeiro, A.C. ve Souza, T.D. (2011). Badiale-Furlong E. Assessment of the antifungal activity of *Spirulina platensis* phenolic extract against *Aspergillus flavus*. *Ciencia E Agrotecnologia*, 35(6), 1050–8.

Stepien, P. ve Johnson, G. N. (2008). Contrasting responses of photosynthesis to salt Stress in The *Glycophyte arabidopsis* and The *Halophyte thellungiella*: role of the plastid terminal oxidase as an alternative electron sink. *Plant Physiology*, 149(2), 1154–1165.

Sudhakar, M.P., Ananthalakshmi, J.S. ve Nair, B.B. (2013). Extraction, purification, and study on antioxidant properties of fucoxanthin from brown seaweeds. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(7), 169-175.

Susanto, E, Fahmi, A. S., Agustini, T. W., Rosyadi, S. ve Wardani, A. D. (2017). Effects of different heat processing on fucoxanthin, antioxidant activity and colour of Indonesian brown seaweeds. *Earth and Environmental Science*, 55:1-10.

Synytsya, A., Kim, W. J., Kim, S. M., Pohl, R., Synytsya, A. ve Kvasnička, F. (2010). Structure and Antitumour activity of fucoidan isolated from sporophyll of Korean brown seaweed *Undaria pinnatifida*. *Carbohydrate Polymers*, 81(1), 41-8.

Temiz, A. (2003). Gıdalarda Mikrobiyolojik Gelişmeyi Etkileyen Faktörler. Bölüm 1, “Gıda Mikrobiyolojisi”. Editör: Ünlütürk A, Turantaş F, Üçüncü Baskı, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir.

The Minh, L., Khang, D. T., Thu Ha, P. T., Thi Tuyen, P., Minh, T. N., Quan, N. V. ve Xuan, T. D. (2016). Effects of Salinity stress on growth and phenolics of rice (*Oryza sativa* L.). *International Letters of Natural Sciences*, 57, 1-10.

Tibbetts, S. M., Milley, J. E. ve Lall, S. P. (2014). Chemical composition and nutritional properties of freshwater and marine microalgal biomass cultured in photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*, 27(3), 1109–1119.

Türk Gıda Kodeksi. 2010. Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği (Tebliğ No: 2009/68). Çevrimiçi olarak mevcuttur: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2010/01/20100108-10.htm> (erişim tarihi: 24 Ağustos 2022).

Ueda, A., Kanechi, M., Uno, Y. ve Inagaki, N. (2003). Photosynthetic limitations of a halophyte sea aster (*Aster tripolium* L.) under water stress and NaCl stress. *Journal of Plant Research*, 116, 65–70.

Ugya, A.Y., Imam, T.S., Li, A., Ma, J. ve Hua, X. (2020). Antioxidant response mechanism of freshwater microalgae species to reactive oxygen species production: a mini review. *Chemistry and Ecology*, 36, 174–193.

Uslu, L., Isik, O., Koç, K. ve Göksan, T. (2011). The effects of nitrogen deficiencies on the lipid and protein contents of *Spirulina platensis*. *African Journal of Biotechnology*, 10(3), 386-389.

Uslu, L., Işık, O. ve Mutlu, Y. (2012). Besleyici element kompozisyonundaki değişikliklerin mikroalgelerde lipid içeriğine etkisi. *Journal of Fisheries Sciences*, 6(3), 176-187.

Uslu, L., Işık, O., Sayın, S. ve Durmaz, Y. (2009). The Effect of temperature on protein and amino acid composition of *Spirulina platensis*. *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 26(2), 139-142.

Uzlasir, T., Isik, O., Hizarci Uslu, L., Selli, S., Kelebek, H. (2023a). Impact of different salt concentrations on growth, biochemical composition and nutrition quality of *Phaeodactylum tricornutum* and *Spirulina platensis*, *Food Chemistry*, 429, 136843.

Uzlasir, T., Selli, S., Kelebek, H. (2023b). Effect of Salt Stress on the Phenolic Compounds, Antioxidant Capacity, Microbial Load, and In Vitro Bioaccessibility of Two Microalgae Species (*Phaeodactylum tricornutum* and *Spirulina platensis*). *Foods*, 12, 3185.

Uzlasir, T., Selli, S. & Kelebek, H. (2023c). *Spirulina platensis* ve *Phaeodactylum tricornutum*'un Biyoaktif Bileşikleri, Sağlık Etkileri ve Gıda Endüstrisinde Kullanımları. *ITU Journal of Food Science and Technology*, 1(1) 15-26.

Uzlasir, T., Selli, S., & Kelebek, H. (2024a). *Spirulina platensis* and *Phaeodactylum tricornutum* as sustainable sources of bioactive compounds: Health implications and

applications in the food industry. *Future Postharvest and Food*, 1–13.
<https://doi.org/10.1002/fpf2.12008>

Uzlasir, T., Şaşmaz, H. K., Kelebek, H. (2024b). Comparison of Extraction Techniques for Determining Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of *Spirulina platensis*, *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 12(4):554-560.

Van Krimpen, M., Bikker, P., Van Der Meer, I., Van Der Peetschwering, C. ve Vereijken, J. (2013). Cultivation, Processing and nutritional aspects for pigs and poultry of European protein sources as alternatives for imported soybean products. Wageningen: UR Livestock Research.

Wallace, J. (2000). Increasing agricultural water use efficiency to meet future food production. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 82, 105–119.

Walne, P. R. (1970). Studies on Food Value of Nineteen Genera of Algae to Juvenile Bivalves of The Genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus*. *Fishery Investigations Series*, 2, 26(5): 1–62.

Wang, K. ve Arntfield, S. D. (2017). Effect of protein-flavour binding on flavour delivery and protein functional properties: a special emphasis on plant-based proteins. *Flavour And Fragrance Journal*, 32, 92–101.

Wu, Q., Liu, L., Miron, A., Klímová, B., Wan, D. ve Kuča, K. (2016). The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of *Spirulina*: An overview. *Archives of Toxicology*, 90(8), 1817–1840.

Xia, S., Wang, K., Wan, L., Li, A., Hu, Q. ve Zhang, C., (2013). Production, Characterization, and antioxidant activity of fucoxanthin from the marine diatom *Odontella aurita*. *Marine Drugs*, 11 (7): 2667-2681.

Yaparel, C. ve Elmacı, Y. (2016). Tat-Koku İnteraksiyonları. *Akademik Gıda*, 14(2) : 218-224.

Yuan, G., Wang, X., Guo, R. ve Wang, Q. (2010). Effect of salt stress on phenolic compounds, glucosinolates, myrosinase, and antioxidant activity in radish sprouts. *Food Chemistry*, 121, 1014–1019.

Zarekarizi, A., Hoffmann, L. ve Burritt, D. (2018). Approaches for the sustainable production of fucoxanthin, a xanthophyll with potential health benefits. *Journal of Applied Phycology*.

Zeng, F., Ou, J., Huang, Y., Li, Q., Xu, G., Liu, Z. ve Yang, S. (2015). Determination of 21 free amino acids in fruit juices by HPLC using a modification of the 6-aminoquinolyl-n-hydroxysuccinimidyl carbamate (aqc) method. *Food Analytical Methods*, 8(2), 428–437.

Zhang, W.-W., Duan, X.-J., Huang, H.-L., Zhang, Y. ve Wang, B. G. (2006). Evaluation of 28 marine algae from the qingdao coast for antioxidative capacity and determination of antioxidant efficiency and total phenolic content of fractions and subfractions derived from *Symphyocladia latiuscula* (*Rhodomelaceae*). *Journal of Applied Phycology*, 19(2), 97–108.

Zhao, D., Kim, S. M., Pan, C. H. ve Chung, D. (2014). Effects of heating, aerial exposure and illumination on stability of fucoxanthin in canola oil. *Food Chemistry*, 14(5):505-13.

Zuo, Z. (2019). Why algae release volatile organic compounds the emission and roles. *Frontiers in Microbiology*, 10.