



**LED IŞIK KAYNAKLARIYLA AYDINLATILAN
Spirulina platensis 'in (GOMONT) GEİTLER
GELİŞİMİ ÜZERİNE SELENYUM (Se) ve
E VİTAMİNİNİN ETKİLERİ**

Özge ALİM

**Yüksek Lisans Tezi
Genel Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Vesile YILDIRIM
TEMmuz-2017**

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**LED IŞIK KAYNAKLARIYLA AYDINLATILAN *Spirulina*
platensis 'in (GOMONT) GEİTLER GELİŞİMİ ÜZERİNE
SELENYUM (Se) ve E VİTAMİNİNİN ETKİLERİ**

Yüksek Lisans Tezi

Özge ALİM

(Enstitü No: 121110107)

Anabilim Dalı: Biyoloji Bölümü

Programı: Genel Biyoloji

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 14.07.2017

Tezin Savunulduğu Tarih : 07.08.2017

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Vesile YILDIRIM (F.Ü)

Diğer Jüri Üyeleri :

Prof. Dr. A. Kadri ÇETİN

Doç. Dr. Vesile YILDIRIM

Yrd. Doç. Neslihan TAŞAR



ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenmesinde ve sonraki her aşamasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım gerekli ilgi ve desteği gördüğüm değerli danışmanım Doç. Dr. Vesile YILDIRIM'a teşekkürlerimi sunarım. Tez konumla ilgili beni cesaretlendiren değerli hocam Prof. Dr. A. Kadri ÇETİN'e ve Yrd. Doç. Dr. Seher GÜR'e, çalışmamın her aşamasında yardımlarıyla beraber *Spirulina platensis*' in teminini sağlayan ve her daim yanımda hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Bülent ŞEN' e aynı zamanda yoğun bir emek vererek yetiştirdikleri *Spirulina platensis*'i çalışmamızda kullanılması için bizimle paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Oya TÜRKMEN IŞIK ve doktora öğrencisi değerli dostum Burcu AK' a teşekkürü borç bilirim. Deney düzeneğimin oluşturulmasında elektrikle ilgili her konuda teknik olarak desteğini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Aykut TOPDEMİR hocama ve yakın zamanda kaybettiğimiz değerli komşum Orhan ACAR' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Selenyum ve E vitamini analizlerinin yapılması aşamasında desteğini gördüğüm Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN ve Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ hocalarıma teşekkür ederim. Tezimin her aşamasında ve manevi olarak her an yanımda hissettiğim laboratuvar arkadaşım doktora öğrencisi Gökçe KENDİRLİOĞLU ŞİMŞEK'e ve maneviyatını hiçbir zaman esirgemeyen Su Ürünleri Yüksek Mühendis'i Ergün ASLAN'a, çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen isimlerini tek tek sayamadığım bütün destekleyenlerime teşekkürü bir borç bilirim. Yüksek lisans çalışmamın FF.14.11 no'lu proje ile mali desteğini sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Yönetim Birimi'ne (FÜBAP) teşekkür ederim ve tüm hayatım boyunca elini benden hiçbir zaman çekmeyen, eğitimin en büyük sermaye olduğu bilinciyle öğrenim hayatım boyunca hiçbir fedakarlığı benden esirgemeyen değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Özge ALİM
2017-Elazığ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
KISALTMALAR LİSTESİ	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL ve YÖNTEM.....	12
2.1. Materyal	12
2.1.1. <i>Spirulina platensis</i> 'in Temini.....	12
2.1.2. Araştırmada Kullanılan Besi Ortamları ve Kimyasallar	13
2.1.3. Araştırmada Kullanılan Ekipmanlar.....	17
2.1.3.1 Terazî	17
2.1.3.2. Spektrofotometre	17
2.1.3.3 Atomic Spectrometer	18
2.1.3.4 HPLC	18
2.1.3.5 Etüv ve Otoklav	18
2.1.3.6 İklimlendirme Cihazı.....	18
2.1.3.7. Santrifüj	18
2.1.3.8 Mikroskop.....	19
2.1.3.9 Led Işıklar ve Diğer Aydınlatma Materyalleri	19
2.2.3.10 Elektrik Ölçü Aleti	19

2.2. Metot	19
2.2.1. Araştırmada Kullanılan Kapların Temizliği ve Sterilizasyonu	19
2.2.2. Stok Kültür Oluşturulması	20
2.2.3. Led Işık Kaynaklarının Ayarlanması	21
2.2.4. Sıcaklık Ayarlanması	22
2.2.5. Araştırmanın Kurulması ve Yürütülmesi	22
2.2.6. Araştırma Süresince Takip Edilen Parametreler	23
2.2.6.1. Yaş (g/L) ve Kuru Madde (g/L) Tayini	23
2.2.6.2. Optik Yoğunluk Tespiti	24
2.2.6.3. Klorofil Analizi (µg/ml)	24
2.2.6.4. E Vitamini Tespiti	25
2.2.6.4.1. HPLC Kullanımından nce İzlenilen Yollar	25
2.2.6.5. Selenyum Tayini (ug/L).....	27
2.2.6.6. Verilerin Değerlendirilmesi.....	28
3. ARAşTIRMA BULGULARI	29
3.1. Bulgular	29
3.1.1. Üç Farklı Işık Rengi ve üç Farklı Doz Selenyum İçeren Kültür Ortamlarının Büyüme Parametrelerine Etkileri	30
3.1.1.1. Yaş Madde (g/L).....	31
3.1.1.2.Kuru Madde (g/L).....	33
3.1.1.3. Optik Yoğunluk	35
3.1.1.4. Klorofil-a	37
3.1.1.5. Selenyum Metal Birikimi (ug/L)	40
3.1.2. Üç Farklı Işık Rengi ve üç Farklı Doz E vitamini İçeren Kültür Ortamlarının Büyüme Parametrelerine Etkileri	42
3.1.2.1. Yaş Madde (g/L).....	42
3.1.2.2. Kuru Madde (g/L).....	44

3.1.2.3. Optik Yoğunluk	47
3.1.2.4. Klorofil a (µg/ml)	49
3.1.2.5. E vitamini ilave edilen Kültür Ortamındaki E Vitamini'nin Günlük Değişimi (ug/mL)	52
4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA	55
4.1. Yaş Madde (g/L) ve Kuru Madde (g/L)	55
4.2. Optik Yoğunluk	57
4.3. Klorofil-a	58
4.4. Selenyum Metal Birikimi (ug/L)	59
4.5. E Vitamini (ug/mL)	61
5. KAYNAKLAR.....	62

ÖZET

LED IŞIK KAYNAKLARIYLA AYDINLATILAN *Spirulina platensis* 'in (GOMONT) GEİTLER GELİŞİMİ ÜZERİNE SELENYUM (Se) ve E VİTAMİNİNİN ETKİLERİ

Bu çalışmada; özellikle akuakültür sanayinde önemli olan mikroalgal biyokütle üretimi için düşük maliyetle alg biyomasının laboratuvar ortamında zenginleştirilmesi hedeflenmiştir. *Spirulina platensis* kültürünü oluşturan besiyerlerine ayrı ayrı Se ve E vitamini ilavesi yapılarak led ışık kaynağı ile üretim sağlandı. Böylelikle absorbe ettiği selenyum ve E vitamininin gelişime olan katkısını 2'şer gün arayla günlük değişim miktarı, gelişim parametreleriyle birlikte gözlemlendi.

Araştırma iki farklı çalışma halinde yürütüldü. İlk aşamada farklı led ışıklarla (kırmızı, mavi, gün ışığı (beyaz)) aydınlatılan ve her renk için 1, 2, 3'er ml E vitamini ilave edilen besiyerlerinde *Spirulina platensis* gelişimi ve E vitamini sentezi 1'er gün arayla 9 gün incelendi. İkinci aşamada farklı led ışıklarla (kırmızı, mavi, gün ışığı (beyaz)) aydınlatılan ve her renk için 15-30-45'er mg/L Na_2SeO_3 ilave edilen besiyerlerinde *Spirulina platensis* gelişimi ve selenyum metal birikimi 1'er gün arayla 13 gün boyunca incelendi. Gelişim parametreleri; yaş (g/L) ve kuru ağırlık (g/L), optik yoğunluğu, klorofil-a miktarı ($\mu\text{g/ml}$), Se metali birikimleri ($\mu\text{g/L}$), E vitamini ($\mu\text{g/mL}$) değişimleri takip edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Spirulina platensis*, Selenyum, E vitamini, Led, Biyomas

ABSTRACT

The Effects of Selenium and Vitamin E on The Development of *Spirulina platensis* (Gomont) Geitler Which is Lightened With Led Lighting

In this study, improvement of economically important micro algal biomass under laboratory conditions at lower cost was aimed. For this purpose Se and vitamin E were added separately in *Spirulina* cultures which were illuminated by different led lights. Variations in concentrations of Se and vitamin E were observed with growth parameters at 2 days intervals.

The reserch was performed in two steps. First step was involved with growth of *Spirulina* in cultures to which 1, 2 and 3 ml of vitamin E were added. Cultures were illuminated with red, blue, and white led lights and vitamin E synthesis was observed at two days intervals for nine days.

Similar experiment was performed for the growth of *Spirulina* in cultures to which 15, 30 and 45 mg/L Na_2SeO_3 were added. Cultures were similarly kept under red, blue and white lamps and accumulation of Se in algal cells was determined at two days intervals for 13 days. Growth parameters such as during the experiments wet weight (g/L), dry weight (g/L), optic density, chl-a amounts ($\mu\text{g/ml}$), Se accumulations ($\mu\text{g/L}$) of the wet weight were also determined.

Keywords: *Spirulina platensis*, Selenium, Vitamin E, Led, Biomass

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1.1. <i>Spirulina</i> tozunun genel analiz sonuçları (Fox, 1996).....	3
Tablo 1.2. Coutteau'a (1996) göre Mikroalg üretimine etki eden parametreler için genelleştirilmiş değerler (Dalay vd., 2008)	7
Tablo 2.1. Schlösser Ortamı Tablosu (Ogawa ve Aiba, 1977).....	14
Tablo 2.2. Denemede Kullanılan <i>Spirulina</i> Ortamı (Ogawa ve Aiba, 1977).....	16
Tablo 3.1. <i>Spirulina platensis</i> gün ışığı (beyaz) ışığa tabi tutularak 24±1 °C, 26±1 °C, 28±1 °C, 30±1 °C, 32±1 °C, 34±1 °C grubu optik yoğunluk değerleri.....	30
Tablo 3.2. <i>Spirulina platensis</i> için gün ışığı led ışıkta besiyeri karşılaştırma değerleri (optik yoğunluk)	30
Tablo 3.3. 15 mg/L Na ₂ SeO ₃ ilavesi ile led ışık kaynaklarının aydınlatıldığı kültürde günlere bağlı yaş madde miktarı değişimi	31
Tablo 3.4. 30 mg/L Na ₂ SeO ₃ ilavesi ile led ışık kaynaklarının aydınlatıldığı kültürde günlere bağlı yaş madde miktarı değişimi	31
Tablo 3.5. 45 mg/L Na ₂ SeO ₃ ilavesi ile led ışık kaynaklarının aydınlatıldığı kültürde günlere bağlı yaş madde miktarı değişimi	32
Tablo 3.6. 15 mg/L Na ₂ SeO ₃ ilavesi ile farklı led ışık kaynağına bağlı kuru madde miktarının günlere göre değişimleri.....	33
Tablo 3.7. 30 mg/L Na ₂ SeO ₃ ilavesi ile farklı led ışık kaynağına bağlı kuru madde miktarının günlere göre değişimleri.....	34
Tablo 3.8. 45 mg/L Na ₂ SeO ₃ ilavesi ile farklı led ışık kaynağına bağlı kuru madde miktarının günlere göre değişimleri.....	34
Tablo 3.9. 15 mg/L Na ₂ SeO ₃ ilavesi ile farklı led ışık kaynağına bağlı optik yoğunluk miktarının günlere göre değişimleri.....	36
Tablo 3.10. 30 mg/L Na ₂ SeO ₃ ilavesi ile farklı led ışık kaynağına bağlı optik yoğunluk miktarının günlere göre değişimleri.....	36

Tablo 3.11. 45 mg/L Na ₂ SeO ₃ ilavesi farklı led ışık kaynağına bağlı günlük optik yoğunluk değişimleri.....	37
Tablo 3.12. 15 mg/L Na ₂ SeO ₃ ilavesi ile ışık kaynaklarına bağlı kl-a'nın günlere göre değişim değerleri	38
Tablo 3.13. 30 mg/L Na ₂ SeO ₃ ilavesi ile ışık kaynaklarına bağlı kl-a'nın günlere göre değişim değerleri	38
Tablo 3.14. 45 mg/L Na ₂ SeO ₃ ilavesi ile ışık kaynaklarına bağlı kl-a'nın günlere göre değişim değerleri	39
Tablo 3.15. Kültür ortamının günlere göre değişen Se absorbans değerlerinin, farklı led ışık kaynakları altına 1. gün ile 13. gün arası değişimleri.....	40
Tablo 3.16. Kültür ortamının günlere göre değişen Se absorbans değerlerinin, mavi led ışık kaynağı altına 1. gün ile 13. gün arası değişimleri	41
Tablo 3.17. Kültür ortamının günlere göre değişen Se absorbans değerlerinin, mavi led ışık kaynağı altına 1. gün ile 13. gün arası değişimleri.....	41
Tablo 3.18. 1 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık renklerine bağlı yaş madde miktarı değişimleri.....	42
Tablo 3.19. 2 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık renklerine bağlı yaş madde miktarı değişimleri.....	43
Tablo 3.20. 3 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık renklerine bağlı yaş madde miktarı değişimleri.....	43
Tablo 3.21. 1 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı kuru madde miktarının günlere göre değişimleri	45
Tablo 3.22. 2 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı kuru madde miktarının günlere göre değişimleri	45
Tablo 3.23. 3 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı kuru madde miktarının günlere göre değişimleri	46
Tablo 3.24. 1 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı optik yoğunluk miktarının günlere göre değişimleri	48

Tablo 3.25. 2 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı optik yoğunluk miktarının günlere göre değişimleri	48
Tablo 3.26. 3 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı optik yoğunluk miktarının günlere göre değişimleri	49
Tablo 3.27. 1 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı kl-a miktarının günlere göre değişimleri.....	50
Tablo 3.28. 2 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı kl-a miktarının günlere göre değişimleri.....	50
Tablo 3.29. 3 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı kl-a miktarının günlere göre değişimleri.....	51
Tablo 3.30. Kültür ortamının farklı led ışık kaynaklarında günlere ve 1 ml E vitamini miktarlarına bağlı değişim değerleri	52
Tablo 3.31. Kültür ortamının farklı led ışık kaynaklarında günlere ve 2 ml E vitamini miktarlarına bağlı değişim değerleri	52
Tablo 3.32. Kültür ortamının farklı led ışık kaynaklarında günlere ve 3 ml E vitamini miktarlarına bağlı değişim değerleri	53

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. <i>Spirulina platensis</i> 'in ışık mikroskobunda çekilmiş fotoğrafı	12
Şekil 2.2. Uygun besiyeri denemeleri	20
Şekil 2.3. Çalışma için hazırlanan devreler, voltaj seçenekleri ve sürücü	21
Şekil 2.4. Kullanılan şerit led'ler	22
Şekil 2.5. Denemeler'in başlangıç evresi ve led aydınlatması ile oluşturulan deney düzenegi	23
Şekil 2.6. Örneklerin etüve alınmadan önceki hali	26
Şekil 2.7. Viallere örneklerin aktarılmış hali	27
Şekil 3.1. 12 Volt'ta karşılaştığımız fotoinhibisyon	29
Şekil 3.2. Soldaki kültür mavi led ışık, ortadaki kültür kırmızı led ışık, sağdaki kültür ise gün ışığı led ışık aydınlatması ile aydınlatılan ortamların deney sonu fotoğrafları (15 mg/L Na ₂ SeO ₃ 'li ortamlar).....	37

KISALTMALAR LİSTESİ

BHT	: Butilhidroksitoluen
°C	: Santigrad Derece
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
HİP	: n-Hekzan/İzopropil Alkol
°K	: Kelvin
KOH	: Potasyum Hidroksit
Na₂SeO₃	: Sodyum Selenit
NaBH₄	: Sodyum Borhidrür
NASA	: Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesi
mg	: Miligram
mg/L	: Miligram/Litre
μ	: Mikron
μg	: Mikrogram
M	: Molar
mL	: Mililitre
Se	: Selenyum
Led	: Işık Yayan Diyot
THP	: Tek Hücre Proteini
UV	: Ultraviole Işın
ppm	: Milyonda bir (1/1000000)
rpm	: Devir/Dakika
V	: Volt

1. GİRİŞ

Algler, akuatik habitatlarda önemli fonksiyonlara sahip tek hücreli hepsi klorofil a ihtiva eden fotosentetik organizmalardır. Gerek doğal ortamlarda, gerekse laboratuvar şartlarında kültürü yapılan alglerin çok çeşitli alanlarda kullanılıyor olması onların ekonomik önemlerini arttırmaktadır. Günümüzde algal üretim; ötrofikasyon kontrolü, atık su arıtımı, güneş enerjisinin biyomasa dönüştürülmesinin en etkili ve ekonomik yoludur, ayrıca mikroalglerin büyük bir kısmı besin endüstrisi, tıp, farmakolojik ve kozmetik alanlarında, tarıma elverişli arazilerde doğal gübre olarak kullanılmaktadır.

Akuatik ortamlarda mikroalglerle yaklaşık yüz yıldan beri çalışmalar yapılmaktadır (Cirik, 2005). Fransa denizlerindeki alglerden 17. yy'da yararlanılmaya başlanmıştır (Atay, 1984). 1890 yılında Hollandalı mikrobiyolog Beijerinck *Chlorella vulgaris*'in agar üzerinde monokültürünü oluşturmuştur (Cirik, 2005).

Ülkemizde ise Ege Üniversitesi'nde, Çukurova Üniversitesi'nde ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi'nde algal biyoteknoloji adı altında, *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* (Nordstedt) (Gomont), *Haematococcus pluvialis* Flotow, *Chlorella vulgaris* Beijerinck (Beijerinck), *Isochrysis galbana* Parke, *Nannochloropsis oculata* (Droop) D. J. Hibberd, *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin, *Porphyridium cruentum* (S.F.Gray) Nageli (*Porphyridium purpureum* (Bory de Saint-Vincent) K.M.Drew & R.Ross) türlerinden araşidonik asit ile eicosapentaenoic asit gibi yağ asitleri, fikosiyenin, fikoeritrin, astaksantin gibi pigmentlerin ve polisakkarit üretiminin sağlanması üzerine farklı çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle gerçekleştirilen üretimin ekonomik olabilmesi için hasat işleminde kümeleştirme metotları ve değişik dalga boylarında aydınlatma üzerine de araştırmalar yürütülmektedir (Gökpınar vd., 2013).

Spirulina sp. 21.yy'ın mucize besini olarak anlatılsa da yy'lar önce insanlık tarafından bulunmuş bir gıdadır. *Spirulina*'nın Texcoco Gölü kıyı bölgesinde yaşam süren Azteklerce kullanıldığına dair en eski bilgi 1524 yılına dayanmaktadır. Aztekler'in "tekuitlatl" olarak isimlendirdikleri *Spirulina*'yı gıda maddesi olarak kullandıkları bildirilmiştir (Ortega, 1972). *Spirulina* ilk olarak 1827 yılında Turpin tarafınca izole edilmiştir (Ciffelli, 1983). Bu bilgilerin yanı sıra Çad Gölü kıyı bölgesinde yaşam süren

Kanembu kabilesi yerlileri bu gıdayı çok eski çağlardan beri bilmekte ve besin maddesi olarak kullanmaktadır. Fakat endüstriyel kültürlerinin oluşturulması ve bilimsel alandaki araştırmaların başlangıcı; ürün olarak 1963'de Fransız Petrol Araştırma Enstitü'sü vesilesiyle hayat bularak, % 60-70 oranında protein ihtiva eden *Spirulina* adında mavi-yeşil algi laboratuvarlarında üretmesiyle olmuştur (Cirik, 1989).

Laboratuvar üretimi sonrasında ise NASA, uzay çalışmalarında kullanılmak üzere besin kapsülleri şekline getirmek için konuyu üstlenmiştir. Bundan sonraki çalışmalar, üretim kapasitesinin artırılması ve değerlendirilmesi yönünde ivme kazanmıştır (Fox, 1999).

Biyoteknoloji trendi olarak mavi yeşil alglerden *Spirulina platensis* 1990'lardan beri yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca *Spirulina*; *Spirulina* biyomas'ının işleme ürünlerinde, tarımda, yem ve gıda maddeleri, ilaç, parfüm yapımında, tıp ve bilim alanında kullanılmaktadır (Mosulishvili vd., 2002). Biyomas'ında içerdiği protein, vitamin ve yağ asitleri açısından zengin olduğu için, insanlar ve hayvanlar için değerli bir gıda ve E vitamini tamamlayıcısıdır (Pronina vd., 2001).

Spirulina filamentli bir siyanobakterdir. Sarmal (spiral) görünümlü mavi-yeşil filamentleri veya trikomları *Spirulina*'nın karakteristik sekiz özelliğindendir, heterokistleri bulunmamaktadır. Hücrelerinde sarmal şekilli filamentler ile beraber gaz dolu vakuollerini bulundurması yüzebilmesine sebep olmaktadır. Trikomları 50-500 mikrometre uzunluğunda, 3-8 mikrometre genişliğinde, tek hücreli bir alg'dir. Kloroplastları olmamakla birlikte klorofil-a bulundurmaktadır, klorofil-b ise içeriğinde bulunmamaktadır. Karotenoid, fikosiyanın ve fikoeritrin bulunmaktadır. Prokaryotik organizmalardır, kalıtsal materyali ise sitoplazma içinde dağınık halde bulunmaktadır. Üreme şekilleri apikal ve interkalav hücre bölünmesi ve fragmentasyonla sağlanmaktadır. Protein miktarınca oldukça zengin bir organizmadır. Cyanobacter cinsi üyelerinde temel olarak büyük değişkenliklerin olmasıyla taksonomisi zordur; bunun ile birlikte iki temel türü vardır. Bu türler; *Spirulina platensis* ve *Spirulina geitleri*'dir (Ciffelli,1983). Hücrenin içeriği ise en dışında müsilaj yapısı ile bu tabakanın dışında da pektin bilişiminden oluşan hücre çeperi bulundurmaktadır (Kasal, 2006).

Tablo 1.1. *Spirulina* tozunun genel analiz sonuçları (Fox, 1996)

FİZİKSEL YAPISI		GENEL ANALİZİ	
Kompozisyonu	Saf <i>Spirulina</i>	Protein	% 55–70
Görünüşü	% 100 toz	Karbonhidrat	% 15–25
Rengi	Koyu mavi yeşil	Lipit	% 6–8
Kokusu-tadı	Az oranda deniz yosunu	Mineralleri (kül)	% 7–13
Filament uzunluğu	64 µ	Lif	% 8–10

- Doğadaki en zengin, tamamı yüksek biyolojik değerdeki proteinini içerir. Bu değer *Spirulina*'nın kendi oranına en yakın soya fasulyesinden yaklaşık iki katıdır.
- Doğadaki en zengin B₁₂ vitaminini içeren gıdadır. Bu değer *Spirulina*'yı takip eden dana ciğerine oranla 2-6 katı daha çok B₁₂ içerir. B₁₂ kısacası yüksek enerji anlamını taşımaktadır.
- Doğadaki en zengin, doğal Fe miktarını içermektedir. Ispanaktan elli sekiz kat, dana ciğerinden yirmi sekiz kat daha çoktur.
- Doğadaki en zengin, gama linolenik asit (GLA) bulunduran gıdadır. Kendi içeriğine oranla içerdiği GLA Çuha Çiçeği'nin yağından üç kat daha fazladır.
- Doğadaki en zengin klorofil miktarını içermekle birlikte bu oran alfalfa ve buğday bitkisinden 5-30 kat daha fazladır.
- Doğadaki en zengin, E vitaminine sahip gıdadır. Kendi içeriğine oranla denkleşebilecek buğday filizinden üç kat daha çoktur. Sentetik E vitaminlerine oranla, biyolojik etkinliği % 49 daha fazladır.
- Doğadaki en zengin antioksidan içeriğindedir. İçerdiği temel antioksidantlar şunlardır; vitaminler: B₁, B₅ ve B₆ olmakla beraber, mineraller: Zn, Mg ve Cu; amino asitler: methionin ve süperantioksidant; beta-karoten ve selenyum (Duru ve Yılmaz, 2011).

Organizmalarda, oksijenin kullanımı sırasında eşleşmemiş elektron bulunduran atom yada moleküller meydana gelir. Serbest radikal ismindeki bu moleküller hayati öneme sahip hücre elemanlarından elektron alarak eşleşir, böylelikle hücre zarıyla birlikte hücrenin yapısını bozarak değiştirir. Serbest radikallerin ortaya çıkışı, yağlı diyetler,

sağlıksız beslenme ile sigara, ilaç tedavisiyle, alkol tüketimi, böcek ilaçları, radyasyon ve çevre kirliliği gibi sebeplerle ortaya çıkarak çoğalmaktadır. Serbest radikaller; immün sistemi zayıflatarak farklı hastalıklara ve erken yaşlanmaya sebep olurlar. Antioksidanlar yardımıyla hücre koruyucu tedavi, dejeneratif hastalıklardan korunmada önemlidir. Fotosentetik mikroalgal hücreler ise antioksidan özellik içeren yararlı bir çok metabolik atığın önemli bir kaynağıdır (Şevket vd., 2006).

Antioksidan bileşikler yönünden, karasal kaynaklı besinlerin yanında akuatik mikroalg türleri de büyük bir yere sahiptir. Bazı mikroalglerin farklı stres şartlarında büyütülmeleri (N yetersizliği ile yüksek ışık şiddeti, yüksek tuzluluk v.b.) ile hücre içerisinde beta-karoten, astaksantin, zeaksantin, lutein gibi güçlü antioksidan özellik içeren pigment maddelerinin biriktirilmesi sağlanabilir. Böylece mikroalgal biyoteknoloji çerçevesinde, kültür şartlarında farklı değişkenlerle oynanılarak hücre üzerinde çeşitli fizyolojik stresler yaratıp; kültüre alınan hücrelerin istenen ürünü daha fazla üretmesi sağlanabilir (Şevket vd., 2006).

Mikroalgler, akuakültürde bivalv, krustase ve balıkların gelişme evrelerinde tüketilen önemli bir besindir (Torzillo vd., 2003).

E vitamini, 1922 yılında beslenmeyle doğurganlık arasındaki bağlantıyı araştıran Evans ve Bishop'ca bulunmuştur (URL-1). E vitamininin birbiriyle bağlantılı pek çok fonksiyonu vardır. Önemli görevlerinden biri; hücre içerisinde ve hücreler arasında antioksidan fonksiyonu göstermesidir (Halver, 2002). E vitamininin bir başka önemli görevi; hücreleri yenilemek ve yeni hücrelerin oluşturulmasını sağlamaktır (Erdoğan, M., 2014). Anaç balık beslenmesi, kültürü yapılan birçok balık türünde, üreme performansını etkileyen faktörlerin başında gelmektedir. Vitaminlerden özellikle A, C ve E vitaminleri, karotenoidler, farklı iz elementler, balıklarda gonadların gelişimiyle, döl verimi, yumurta ile sperm kalitesi, yumurtalarının dölleme, embriyonal gelişimi ve larvanın hayatta kalma oranları üzerine etkili olmaktadır. E vitamininin yetersizliği üreme performansında; olgunlaşmamış gonadlara, düşük kuluçka miktarına ve larvada düşük yaşama oranına neden olmaktadır (Köprücü ve Bağcı, 2012).

Şu ana kadar yapılan çalışmalar, E vitaminiyle desteklenerek kültürü yapılan akuatik canlıların yaşam oranları üzerinde oldukça olumlu etkileri olduğunu göstermektedir (Erdoğan, M., 2014).

Selenyumun da E vitaminiyle yakından ilişkisi olduğu bilinmektedir. Her ikisi de biyolojik zarları oksidatif dejenerasyondan korur. Yoksunlukları dokularda parçalanmaya sebep olur.

Selenyum iki şekilde ortaya çıkar:

- İnorganik olarak: selenat ve selenit
- Organik olarak: selenomethionine ve selenosistein (Barceloux, D., G., 1999).

Birçok organizma selenyumunu kendi metabolizmasında selenit, selenat ve başka türlü kullanabilmektedir (Bowie vd., 1996).

Algler; Selenyum'a çevrede selenit yada selenat formları olarak maruz kaldıklarında bunu organik selenyum bileşikleri haline dönüştürür (Vitova vd., 2015). Genellikle selenyumca zenginleştirilmiş *Chlorella* veya *Scenedesmus* biyoması tüm hayvan diyetlerinde test edildiğinde; istatistiksel olarak en iyi etkiyi spesifik fizyolojik ve fiziksel parametrelere selenit ilavesi yapıldığında ulaşılmıştır (Skrivan vd., 2006).

İnorganik selenit'in protein, lipit ve diğer hücre bileşenlerine bağlanarak organik formlara dönüştüğu gözlenilmiştir (Li vd., 2003).

Price vd., (1987) yaptıkları çalışmada; selenyum'un mikroalglerde olduğu gibi deniz diatomu olan *Thalassiosira pseudonana*'nın büyümesi için temel unsur olarak göstermiştir.

Selenyum (Se) insan için vazgeçilmez bir mikronütrient olarak oldukça dikkat çekmiştir (Chen vd., 2006). Selenyum birçok epidemiyolojik çalışmada göğüs, prostat, kolorektal kanser gelişimini yavaşlattığu görülmüştür (Vitova vd., 2015). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan araştırmalar göstermiştir ki; selenyum içeriği düşük olan tahıl yetişen alanlarda görülen kanser oranı ve bu yüzden oluşan mortalite, diğer alanlardan daha yüksek olmuştur (Clark vd., 1991).

Selenyum (Se), hücresel seleno bileşikleri, yani selenoenzimlerin ve selenoproteinlerin önemli bir bileşeni, hücre zarının bütünlüğünün korunmasında önemli bir rol oynar ve oksidatif hayvan hücrelerinde hasarları lipidler, lipoproteinler ve ve DNA'yı korur (Huang vd., 2005).

Son zamanlarda selenyum' un; kalp hastalığı, genel kanser ölümlerinin azaltılması ve önlenmesi gibi birçok tıbbi etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Duffield vd., 2002).

Genellikle organik selenyum içeren besinlerin yenmesi gerektiğine inanılmaktadır çünkü; inorganik Se'un alınmasından daha iyi ve daha güvenlidir, böyle düşünülerek sarımsak, maya ve laktik asit bakterileri gibi Se'ca zengin biyolojik ürünlerin çeşitlerinden gıda takviyeleri geliştirilerek satışa sunulmuştur. Mikroorganizmalar kullanılarak Se tüketimi son on yılda daha çok dikkat çekmiştir (Chasteen ve Bentley, 2003).

Selenyum birçok organizma için gerekli olmakla beraber hayvan sağlığı için önemli faydası olsa da bazen tehlikeli olabilmektedir (Vitova vd., 2015).

Selenyum bileşikleri algler tarafından çeşitli şekillerde kullanılmaktadır. Algler bir yandan Se birikimiyle oluşan tehlikeli alanlarda Se absorbe ederek, diğer bir şekilde ise hayvanlar ve insanlar için Se bakımından zenginleştirilmiş alg biyomas'ları formundaki faydalı diyet takviyelerinde kullanılmaktadır.

Algler selenyum'u, sulamada tarımsal direnaja sularında, selenyumca zenginleştirilmiş toprak veya kömür üretimi sırasında oluşan endüstriyel atık sularda, yağ ve diğer endüstriyel aktivitelerin yüksek konsantrasyonda selenyum bileşimi olan çevresel kirlenmelerde iyileştirme amaçlı kullanılabilir.

Se bakımından zenginleştirilmiş *Chlorella*'nın kümes hayvanlarına yem olmasıyla birlikte; kümes hayvanlarının sağlığında da kullanılabilir ve organik selenyum içeren selenyumca zenginleştirilmiş kümes hayvanları insanlarca tüketilebilir (Vitova vd., 2015). Yine selenyumca zenginleştirilmiş alglerle beslenen koyunların doğurganlığında daha fazla artış (%38) olduğu bildirilmiştir (Rodinova vd., 2008).

Son zamanlarda, *Spirulina platensis* kültürüne Se uygulanması Chen vd., (2005) tarafından optimize edilmiştir.

Spirulina'nın üretilmesi ve işlenmesi aşamalarında yanlış uygulamalar mikrobiyal kontaminasyonlara yol açabilir. Modernize endüstriyel çiftliklerden alınan *Spirulina* örneklerinin yüzlerce analizinde ender miktarda koliform bakterisine rastlanıldığını belirtmişlerdir (Yılmaz ve Duru, 2011).

Coutteau'a (1996) göre; alg gelişimini düzenleyebilen en önemli değişkenler; tuzluluk, ışık şiddeti, pH, türbülans, besin kalitesi ve düzeyi ile sıcaklıktır. Ekstrem değişkenler ve referans aralıkları türe özeldir. Aynı zamanda, en olmazsa olmaz değişkenlerle ilgili genel değerler Tablo 1.2'de belirtilmiştir. Birden fazla faktör birbiri ile

ilişkili olabilmektedir. Araştırmalarda yapılandırılan ortam şartlarında optimumu oluşturan değişken, başka bir araştırma için optimum olamayabilir (Dalay vd., 2008).

Tablo 1.2. Coutteau’a (1996) göre Mikroalg üretimine etki eden parametreler için genelleştirilmiş değerler (Dalay vd., 2008)

Parametreler	Sınırlayıcı Aralık	Optimum Şartlar
Sıcaklık	16-27	18-24
Tuzluluk	12-40	20-24
Işık Yoğunluk Değeri	1-10	2.5-5
Fotoperiyodik Değeri		16:8 (minimal değer) 24:0 (maksimal değer)
pH	7-9	8.2-8.7

Spirulina türlerinin çoğalmasında ise sıcaklık kontrolü en önemli faktörlerden biridir. *Spirulina* büyümesi için optimum sıcaklık, 30 ile 35 °C aralığındadır (Bombart vd., 1993). Düşük sıcaklığın favori kültürü ise *Chlorella*’dır, düşük sıcaklıkta *Spirulina*’nın kültür miktarındaki zenginliği azalmaktadır. Bu nedenle kışın 15 °C’nin altındaki bölgelerde *Spirulina*’nın üretimi uygun değildir (Richmond vd., 1990).

Tomaselli vd., (1988) yaptığı çalışmada *Spirulina platensis*’in M2 kültürününün sıcaklığı 40 °C’ye çıkarıldığında dikkate değer bir lipid artışı (% 43) ve karbonhidrat (% 30) ile ilişkili bir protein içeriğinin ise (% 22) düşüş gösterdiğine dair önemli bulgular ortaya çıkmıştır.

Cohen, (1997); Kuru ve Cirik, (2002)’e ait bir başka çalışmada *Spirulina* hücrelerin makromoleküler yapısı ile sıcaklık arasında da bir ilişkilendirme olduğunu, sıcaklık arttığında özellikle 40 °C ve üzerinde gözlenen sıcaklık artışında, protein oranının azalma gösterdiği, buna karşılık yağ ve karbonhidrat oranlarının artışı tespit edilmiştir (Oğuz, 2008).

Gürbüz (1997)’de yaptığı bir çalışmada *Spirulina maxima* suşu kullanarak, ışık, pH, sıcaklık gibi istenilen şartlarda *Spirulina*’nın beş farklı besiyeri ortamında gelişimini

gözlemleyerek; vitamin uygulanmasının gelişimde etkili faktör olduğunu söyleyerek, hücre miktarı ve biyomas ağırlığının en çok Zorrouk (III.) ortamında olduğunu tespit etmiş ve klorofil a, protein, yağ ve karbohidrat analizlerini büyük hacimli kültür örneklerinde incelemiştir.

Spirulina platensis yüksek karbonatlı veya bikarbonatlı sularda ve pH'ı 11'i gösterebilen, yüksek pH karakteri gösteren sularda yoğun olarak üretimi sağlanabilen, hasadı basitce yapılmakta olan planktonik bir organizmadır (Kargın ve Duru, 2011).

Havalandırma işleminin yapılması kültür ortamları için oldukça önemlidir, alglerin çökmesini önleyerek, kültürlerin içerisindeki hücrelerin eşit yani homojenize dağılımını sağlar. Böylece bütün hücrelerin, ışıktan ve besin maddelerinden eşit bir şekilde faydalanmaları hedeflenir, aynı zamanda termal tabakalaşmalar önlenmektedir (özellikle, açık havada yapılan açık kültürlerde), kültürün ortam ile hava arasındaki gazın difüzyonunun dengelenmesinde görev alır (Kargın ve Duru, 2011). Laboratuvar ortamlarında ise çok çeşitli havalandırma yöntemleri uygulanmaktadır, havalandırma borularının uygulanmasının yanı sıra çalkalamalı inkübatörlerin belirli bir rpm'e ayarlanarak da yapılmaktadır. Miktarı az olan kültür ortamlarında ise çoğu zaman çalkalamaya gerek duyulmaksızın günde belirli aralıklarla el ile çalkalama metodu uygulanmaktadır.

Kurhan, (2012)'de kültür çalışmasını 24°C±2 sıcaklıkta, 60 µmolfoton/m².s ışık yoğunluğunda (3245 lüks), 18:6 (aydınlık:karanlık) ışık periyodunda, *Chlorella vulgaris*'i sabit tutarak, *Spirulina platensis*'i ise 100 devir/dakika' da çalıştırılan çalkalamalı inkübatör desteği ile kültürü gelişmeye bırakmıştır. Çalkalama ile hava girişi sağlanan *Spirulina platensis* kültüründe pH değerlerinin daha kararlı ve artışlarının doğrusal olduğu gözlemlenmiştir.

Zinicovscaia vd., (2015)'de *S.platensis*'i 100 rpm'de 250 mL kapasiteli Erlenmeyer'e krom veya nikel ya da iyonları içeren 100 mL besin ilave edilerek bir çalkalamalı inkübatör üzerine yerleştirilmiş. *Spirulina platensis*'in zamana bağlı Biyosorpsiyon kapasitesi elektrokaplama birimlerinin endüstriyel nikel ve krom çıkarılması açısından incelenmiştir. Krom metal değeri ilk 15 dakikadan itibaren başlangıç değerine göre değişmiş ve bakılan diğer metal oranında da 1 saat içerisinde başlangıca göre farklılık gözlemlenmiştir.

Matthijs vd., (1996); Hirata vd., (1988)'de; ışığın dalga boyu ve yoğunluğu, ışık kaynağının özellikleri, fotoototrofik mikroalg büyümesi için kesinlikle kritik nokta olduğunu belirtmişlerdir (Wang, 2007).

Işık seviyesinin artışı fotosentez yapan organizmalarda büyüme hızlarını artırır ve belirli bir seviyeden sonra, doyum seviyesine ulaşan kültürlerde alg hücrelerinin ürettikleri enerji, ısı olarak ortaya çıkar. Açığa çıkan fazla miktardaki enerji sebebiyle inhibisyon oluşur ve fotoinhibisyon sonucunda geri dönüşü olmayan zararlar oluşabilir. Işığın inhibisyon etkisi, bir kaç dakika içinde görülmeye başlar ve bu durum bazı kültürlerde 15-20 dakika içinde %50'ye kadar varan hasar'a sebep olabilir (Dalay vd., 2008).

Torzillo (1991)'de; yürüttüğü bir araştırmada *Spirulina maxima*'nın sürekli kültürlerde gelişim seviyesinin, kesikli kültürlerle oranla daha fazla olduğunu belirtmiştir. Bunun yanı sıra yüksek ışıkta aydınlatma uygulanan kültürlerde, karbonhidrat miktarının, düşük ışık seviyesiyle aydınlatılan kültürlerde ise protein miktarının fazla olduğundan bahsetmiştir.

Matthijs vd., (1995); *Chlorella pyrenoidosa* (Emerson suşu)'nu BG11 doymuş mineral ortamında 20 °C'de, led ışıkla aydınlatarak gelişimini incelemiştir. Kültürleri thermostabilized ışık geçirmez dolaplara yerleştirmiş, kararlı durum kültürlerini daha sonra en az 5 gün boyunca, belirli bir foton akısı algal üretim hızını hesaplamak için kullanmışlardır. Ortalama büyüme hızı için alınan örneklerle; 10 okuma hesaplanmış ve ortalamanın standart sapmasını % 10 daha düşük bulmuşlardır.

Michel (2004) ise; geleneksel boru şeklindeki deşarj lambaları ve ampullerle karşılaştırıldığında, dar bant dalga boyu ve düşük güç tüketimi özelliklerine sahip yeni geliştirilen Led ışık, dalga boyu etkisinin alg yetiştirilmesi ve gelişimi için en uygun ışık kaynağı olarak kabul edildiğini söylemiştir (Wang, 2007).

Wang vd., (2007)'lerinin yaptığı bir çalışmada; ışık dalga boyu ve spesifik büyüme oranı üzerinde çeşitli led'lerin yoğunluğu ve etkileri araştırılmış ve büyüme etkilerini gösteren bir modifiye Monod modeli önerilmiştir. Bu arada, biyokütle enerji verimi verimliliği de tartışılmıştır.

Oruç (2011)'de led ışıklardan oluşturulmuş bir levha sistemi ile *Chlorella*'ya değişik renklerdeki led' ler kullanılmak suretiyle üretimin artması ve yağ asiti içeriğindeki değişimin tespit edilmesi amacıyla led ışık kaynağı kullanımına yönelmiştir.

Yapay aydınlatmada kullanılan günümüzdeki en yeni teknoloji olan ışık yayan diyetler (led'ler) aydınlatma tarihinde Edison' un yüz yıl önce bulduğu elektrik lambasından sonra en önemli buluş olarak kabul edilmektedir. Daha önce hiçbir ışık kaynağı led kadar uzun yıllar çalışmamış ve yine hiçbir ışık kaynağı led kadar az enerji tüketimi gerçekleştirmemiştir (Yüce vd., 2016).

Led; ingilizce olarak, light emitting diode kelimelerinin kısaltılmasıdır. Işık yayan diyet anlamını taşır. Led'ler elektrik enerjisini ışığa dönüştürebilen yarı iletken devre elemanlarıdır (Oruç, 2011).

Led'in hangi renkte ışık yayması isteniyorsa Ga, As, Al, PO_4^3 , In, nitrit gibi kimyasal materyallerden uygun oranda yarı iletken materyale ek yapılmaktadır. Böylelikle led'in çipinde hedeflenen dalga boyunda ışımaya yapabilmesi sağlanmaktadır (Oruç, 2011).

Led'lerin doğrusal akışı, aydınlatma yapılan bölgenin direk ışık almasını sağlayarak, tek tip aydınlatmayı büyük oranda arttırmaktadır bununla birlikte ışık kaynakları arasında aydınlanmayan karanlık bölgeleri azaltır. Bunun sonucunda, yayılmakta olan ışık maksimum kullanılarak enerji sarfiyatı ve ışığın yarattığı kirliliği azaltılır. Led'lerin aydınlatma verimi, enerji tasarruflu lambalardan yada şimdiye kadar kullanılan sokaklardaki aydınlatma sistemli yüksek basınçlı sodyum lambalardan daha fazladır. Bu bilgilere ilave olarak, led'ler eski akkor elektrik ampullerle kıyaslandığında sekiz kat fazla parlaklık sunmaktadır (Oruç, 2011).

Renk sıcaklığı Kelvin'le ($^{\circ}K$) ölçülmektedir. Işığı meydana getiren tüm renklerin, renk sıcaklığı üç temel gruptan oluşur. Sıcak-beyaz 3300 $^{\circ}K$ ve altında, naturel beyaz 3300-5000 $^{\circ}K$, gün ışığı beyazı 5000 $^{\circ}K$ ve üzerindedir. Rakamsal değer azaldıkça, renk kırmızı tona, arttıkça mavi tona yaklaşır. Sıcak beyaz ışık içeren bir akkor lamba 2700 $^{\circ}K$ 'e sahipken, aynı güçteki bir gün ışığı lamba 5600 $^{\circ}K$ renk sıcaklığı oluşmaktadır. Öğlen saati güneş hemen hemen 5000 $^{\circ}K$ 'ken; sabah ve akşam 4000 $^{\circ}K$ 'dir (Oruç, 2011).

Bu çalışmada; hem ticari hemde bilimsel anlamda önem arz eden *Spirulina platensis*'in (M2 suşu) gelişimini günümüzde tasarruf imkanı sunan farklı renklerdeki led ışık kaynaklarıyla, havalandırmaya gerek duymaksızın çalkalamalı inkübatör ile

alkalayarak, besiyerlerine ayrı ayrı kültür ortamları oluşturulmak üzere Se ve E vitamini ilave edilerek, absorbe ettiği selenyum miktarını gelişim parametreleriyle gözlemlemek ve içerdiği E vitamini miktarının günlere bağlı değişimini gelişim parametreleriyle birlikte incelemeyi amaçladık.



2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. *Spirulina platensis*'in Temini

Denemede kullanılan fitoplankton türü olan *Spirulina platensis* (Cyanophyta) M2(düz) suşu; Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nden hazır kültür alımı yapılarak temin edilmiştir.



Şekil 2.1. *Spirulina platensis*'in ışık mikroskopunda çekilmiş fotoğrafı

2.1.2. Araştırmada Kullanılan Besi Ortamları ve Kimyasallar

Denemelerde iki farklı besiyeri ortamı kullanılmış olup uygun besiyeri ortamı ile çalışmalara devam edilmiştir. Bu ortamlar spirulina besiyeri ve schlösser besiyerleridir. Bu ortamların hazırlanmasında kullanılan kimyasallar ve miktarları tablolarda verilmiştir.

Analiz yapımında kullanılan kimyasallar:

- CH_3COCH_3 (Aseton)
- Na_2SeO_3 (Sodyum Selenit)
- HCl (Hidroklorik Asit)
- H_2SO_4 (Sülfürik Asit)
- NaNO_3 (Nitrik Asit)
- NaOH (Sodyum Hidroksit)
- NaBH_4 (Sodyum Borhidrür)
- Asetonitril
- BHP’li HİP
- KOH (Potasyum Hidroksit)
- E Vitamini
- Atomik absorbsiyon kalibrasyonu için selenyum standartı
- Besin ortamı için kullanılan kimyasallar Tablo 2.1 ve 2.2’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Schlösser Ortamı Tablosu (Ogawa ve Aiba, 1977)

Bileşen	Stok Solüsyon (g.l ⁻¹ distile H ₂ O)	Kullanılan Miktar (500 ml için)
Solüsyon I. (500 ml)		
NaHCO ₃ (Sodyumbikarbonat)	-	13,61 g
Na ₂ CO ₃ (Sodyum karbonat)	-	4,03 g
K ₂ HPO ₄ (Potasyum fosfat)	-	0,50 g
Solüsyon II. (500 ml)		
NaNO ₃ (Sodyum nitrat)	-	2,5 g
K ₂ SO ₄ (Potasyum sülfat)	-	1,0 g
NaCl (Sodyum klorür)	-	1,0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O (Mağnezyum sülfat 7.mol su)	-	0,2 g
CaCl ₂ .2H ₂ O (Kalsiyum klorür 2.mol su)	-	0,04 g
FeSO ₄ .7H ₂ O (Demir sülfat 7.mol su)	-	0,01 g
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	-	0,08 g
İz Metal Solüsyonu		1 ml
Vitamin Solüsyonu		1 ml

İz metal solüsyonu ve vitamin solüsyonu bileşenleri bir sonraki sayfada Schlösser ortamı tablosunun devamı olarak gösterilmektedir.

- İz Metal Solüsyonu

Bileşenler	Stok Solüsyon (g.l ⁻¹ dH ₂ O)	Kullanılan Miktar (1 litre için)
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	-	0,5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O (Demir II sülfat 7.mol su)	-	0,7 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O (Çinko sülfat 7.mol su)	1,0	1 ml
MnSO ₄ .7H ₂ O (Mangan II sülfat 7.mol su)	2,0	1 ml
H ₃ BO ₃ (Borik asit)	10,0	1 ml
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O (Kobalt II nitrat 6. mol su)	1,0	1 ml
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O (Sodyum molübdat 2.mol su)	1,0	1 ml
CuSO ₄ .5H ₂ O (Bakır II sülfat 5.mol su)	0,005	1 ml

- Vitamin Solüsyonu

1 litre distile H₂O'da siyanokobalamin çözülür.

Bileşen	Kullanılan Miktar (1 litre için)
Cyanocobalamin (vit. B ₁₂)	5 mg

Tablo 2.2. Denemede Kullanılan Spirulina Ortamı (Ogawa ve Aiba, 1977)

Bileşen	Stok Solüsyon (g.l ⁻¹ distile H ₂ O)	Kullanılan Miktar (500ml için)
Solüsyon I. (500 ml)		
NaHCO ₃	-	18,6 g
Na ₂ CO ₃	-	8,06 g
K ₂ HPO ₄	-	1 g
Solüsyon II. (500 ml)		
NaNO ₃	-	5 g
K ₂ SO ₄	-	2 g
NaCl	-	2 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	-	0,4 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	-	0,02 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	-	0,02 g
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	-	0,16 g
Mikronütrient Solüsyonu	-	10 ml
Vitamin Solüsyonu	-	-

Spirulina ortamına ait mikronütrient solüsyon içeriği tablosu sonraki sayfada gösterilmektedir.

- Mikronütrient Solüsyonu

BİLEŞENLER	Stok Solüsyon (g.l ⁻¹ dH ₂ O)	Kullanılan Miktar (1 litre için)
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	-	
FeSO ₄ .7H ₂ O	-	0,7 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O		0,001 g
MnSO ₄ .7H ₂ O		0,002 g
H ₃ BO ₃		0,001 g
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O		0,001 g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O		0,001 g
CuSO ₄ .5H ₂ O		0,00005 g

*Solüsyon 1 ve solüsyon 2 ayrı ayrı otoklavlanarak solüsyonlar soğuduktan sonra karıştırılmıştır.

2.1.3. Araştırmada Kullanılan Ekipmanlar

2.1.3.1 Terazî

Araştırma süresi boyunca tartım işlemleri Shimadzu marka hassas terazî ile yapılmıştır.

2.1.3.2. Spektrofotometre

Jenway marka (6105 UV/Vis Spektrofotometre) kullanılarak, optik yoğunluk ve Klorofil-a tayini yapılmıştır.

2.1.3.3 Atomic Spectrometer

Spirulina platensis'deki selenyum birikimi miktarının tespit edilmesi için Perkin Elmer marka FIAS hidrür sistemine sahip atomik absorpsiyon spektrometresi kullanılmıştır.

2.1.3.4 HPLC

E vitamininin *Spirulina platensis* kültüründen alınan örneklerde günlere bağlı tespitinin yapılabilmesi için; mobil faz olarak Asetonitril/metanol (%60+%40, v/v) karışımı kullanıldı. Analiz, Shimadzu marka HPLC cihazı ile yapıldı. Mobil faz akışı 1 ml/dk olarak belirlendi. Analiz için UV dedektörü kullanıldı ve kolon olarak Süpelcostil™ LC 18 (15 x 4.6 cm, 5 µm; Sigma, USA) kolonu kullanılmıştır.

2.1.3.5 Etüv ve Otoklav

Araştırmada kullanılan tüm cam malzemelerin sterilizasyonu ve kuru madde tespiti için Binder marka etüv (sterilizatör), kültür ortamlarının sterilizasyonu için Nüve OT 90L model otoklav kullanılmıştır.

2.1.3.6 İklimlendirme Cihazı

Çalışmada stok kültürlerin muhafazasında ES120 Nüve model inkübatör, araştırmanın yürütülmesinde ise Gerhardt ve Benchmark İncu model shaker kullanılmıştır.

2.1.3.7. Santrifüj

Hettich marka santrifüj cihazı kullanılarak örneklerin çökeltme işlemleri yapılmıştır.

2.1.3.8 Mikroskop

Araştırmamızda Olympus marka ışık mikroskobu kullanılmıştır.

2.1.3.9 Led Işıklar ve Diğer Aydınlatma Materyalleri

Araştırmamızda aydınlatmanın sağlanması Sensotik marka 3 çipli üzerinde 48 adet ışık bulunan 70'er cm şerit led ışık kaynakları ile sağlanmıştır. 3 x 2,2 Ω paralel bağlanmış taş direnç, 2 x 7805 regülatör trans, 1 x switch 12 volt materyalleri yardımıyla led ışık kaynaklarının led başına düşen voltajların ayarlanması ve led ışık kaynaklarının ısınmaması sağlanmıştır.

2.2.3.10 Elektrik Ölçü Aleti

Led ışık kaynakları için voltaj aralıklarının ayarlanmasında Mastech MS8217 Dijital Multimetre marka/model elektrik ölçü aleti kullanılmıştır.

2.2. Metot

2.2.1. Araştırmada Kullanılan Kapların Temizliği ve Sterilizasyonu

Başarılı bir alg kültürü elde edilmesinde cam ve plastik malzemelerin sterilizasyonu özenle yapılması gereken bir işlemdir. Bu nedenle bütün malzemeler metanol yada HCl (6M) çözeltisi ile temizlenerek mikroorganizmalardan arındırılmış ve ardından saf su ile durulanmıştır. Kontaminasyon oluşumunu engellemek amacıyla tüm cam malzemeler özenle alimünyum folyo ile sarılıp etüv 200 °C'ye ayarlanarak 1 saat süreyle sterilizasyonu sağlanmış ve malzemeler kullanılabilecek kadar saklanmıştır. Araştırmada kullanılan tüm besi ortamları (Spirulina ortamı ve Schlösser ortamı) otoklav'da 121 °C'de 15 dakika sterilizasyonu sağlanmış ve +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.2. Stok Kültür Oluşturulması

Denemelerde öncelikle gelişime en uygun sıcaklık aralığı belirlemek üzere sırasıyla çalkalamalı inkübatör 24 ± 1 °C, 26 ± 1 °C, 28 ± 1 °C, 30 ± 1 °C, 32 ± 1 °C, 34 ± 1 °C'ye ayarlanarak 9'ar gün süreyle, *Spirulina platensis*'in optik yoğunluk takibi yapmak suretiyle gelişimine en uygun sıcaklık tespiti yapıldı. Uygun sıcaklık aralığı belirlendikten sonra yine gelişimi daha iyi gözlemlenmek üzere iki farklı besiyeri uygulamasına tabii tutularak, 9 gün süreyle optik yoğunluk okundu. Deneyler üç paralel olmak üzere uygun olan besiyerinde ve sıcaklıkta sürdürüldü.

Stok kültür ise; 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyoda ve 24 °C ayarlanmış inkübatörde çoğalabilmesi amacıyla; spirulina ve schlösser besiyeri ortamında 9'ar günlük optik yoğunluk karşılaştırması bakarak 4/5 canlı/besiyeri bulunan erlenleri devamlı havalandırma sistemi ile besiyeri karşılaştırması yapıldı ve daha sonra *Spirulina platensis*'in gelişimi için uygun ortam seçilerek muhafaza edildi.



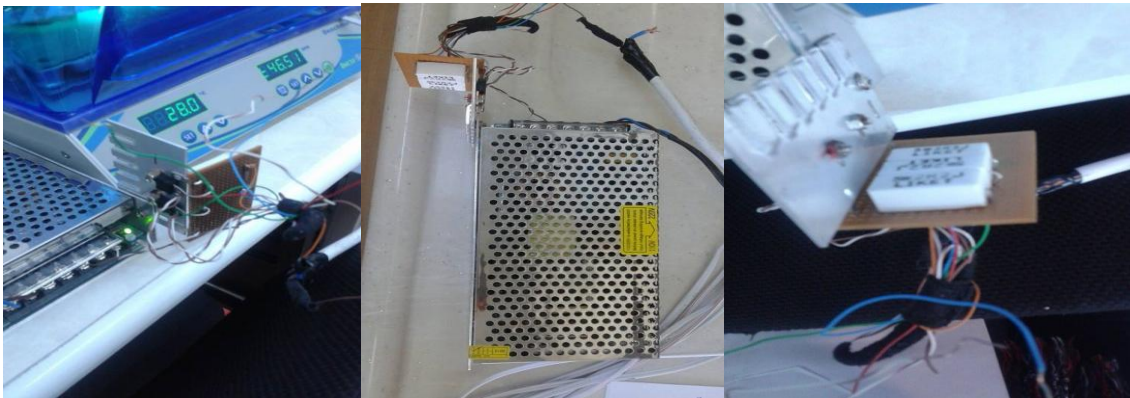
şekil 2.2. Uygun besiyeri denemeleri

2.2.3. Led Işık Kaynaklarının Ayarlanması

Uygun sıcaklık belirlemek üzere, çalkalamalı inkübatör ve deneyde kullanılmak üzere hazırlanmış üzerinde 48'er tane ışık bulunan 70'er cm'lik led ışık kaynaklarımızı, uygun bir besleme sürücü kullanarak başlangıçta 5 farklı voltaj seçeneğine uyarlanabilir $2,2\Omega$ 'luk taş dirençler ve 7805'lik regülatör translar yardımıyla devreler yaparak switch beslemesi ile şerit led ışıkların ısınmaması ve yeterli voltaj ayarlaması yapıldı.

Bu uygulamayla hem led ışıkların doğal olarak ısınmasıyla açığa çıkan ısının önüne geçerek canlının ortam sıcaklığını dengelendi, hem de uygun voltaj seçenekleri belirlendi. Led ışıklar için standart olan 12 volt ve sonrasında 9 ve 8 voltluk denemeler yaparak uygun voltaj aralığını belirleyip, led başına yaklaşık 2.6 volt düşen 3 çipli ve 8 volta ayarlanmış şerit led ışıklar kullanarak her led ışık arasında erlenlerin birbirine temas etmesinin önüne geçmek için 1 metre aralık bırakarak deney düzeneğimizi oluşturuldu.

Sadece led ışık aydınlatmasının olması için çalkalamalı inkübatörün ışığını kapatarak, Şekil 2.4'de görülen şerit ledleri erlenlere sararak etrafını alüminyum folyo ile ışık almayacak şekilde dışarıdan gelebilecek ışıklardan izole ettik. Sonrasında çalkalamalı inkübatörü 100 rpm'e ayarlayarak, en uygun sıcaklık 26 ± 1 °C °'de ve en uygun besiyeri olan Schlösser besiyeri ortamında, devamlı aydınlatılmak üzere Şekil 2.3 ve Şekil 2.4'de görüldüğü gibi deney düzeneğimizi oluşturduk.



Şekil 2.3. Çalışma için hazırlanan devreler, voltaj seçenekleri ve sürücü



Şekil 2.4. Kullanılan şerit led'ler

2.2.4. Sıcaklık Ayarlanması

Ön denemeler için; led ışıklar vasıtasıyla devamlı aydınlatmaya tabi tutulan *Spirulina platensis* M2 suşu, 100 rpm'de çalkalanan ve ışık geçirgenliğinin ideal olması düşünülerek 50 ml canlı 200 ml besiyeri bulunan *Spirulina platensis*'e beş farklı sıcaklık (26 ± 1 °C, 28 ± 1 °C, 30 ± 1 °C, 32 ± 1 °C, 34 ± 1 °C) denemesinin ardından uygun sıcaklık aralığı optik yoğunluk vasıtasıyla bulunup; çalkalamalı inkübatör bu sıcaklığa ayarlandı ve deneylere bu sıcaklık aralığında devam edildi.

Spirulina platensis'in gelişimi için uygun besiyeri belirlenmesinde ise; 100 rpm hızı, 26 ± 1 °C sıcaklık aralığı, 8 V gerilime ayarlanmış çalkalamalı inkübatör içerisine; içinde spirulina ortamı ve schlösser ortamı bulunan iki farklı ortam içeren *Spirulina platensis*'ler 9'ar gün arayla optik yoğunluk izlemesi yapılarak uygun besin ortamı tespiti yapılmış ve schlösser besin ortamının gelişime daha uygun olduğu tespit edilerek çalışmalara bu besin ortamı ile devam edilmiştir.

2.2.5. Araştırmanın Kurulması ve Yürütülmesi

Biyoteknoloji laboratuvarında denemede kullanılacak olan *Spirulina platensis* türü aşılı kültürleri deneme süresi boyunca 1000 ml'lik erlenlere (500 ml besiyeri 500 ml canlı olacak şekilde) ekimi yapılarak deney süresi sonuna kadar 26 ± 1 °C °C'de, schlösser

(Ogawa vd., 1977) besi ortamında ve 100 rpm’lik çalkalama hızında sabitlenerek, önceden hazırlanmış şerit led kaynaklar Şekil 2.5’de görüldüğü gibi erlenlere sarıldı ve dış çevreden alüminyum folyo ile izole edildi.



Şekil 2.5. Denemelerin başlangıç evresi ve led aydınlatması ile oluşturulan deney düzeneği

Yapılacak deney E vitamini tespiti ise 1 litre saf suda çözünmüş 5 mg E vitamini tartılarak besiyerine standart hariç, 1000 µl, 2000 µl, 3000 µl’şer olmak üç farklı dozda denenmek üzere ayrı ayrı ilave edildi.

Deney selenyum tayininde ise besiyerlerine standart hariç; ilave 15 mg/L, 30 mg/L, 45 mg/L olacak şekilde besiyerlerine ayrı ayrı üç farklı dozda Na₂SeO₃ ilave edildi.

Deney düzeneği kurulduktan sonra E vitamini için 9 gün boyunca klorofil a (µg/ml), kuru/yaş madde analizi (g/L), optik yoğunluk ve E vitamini analizi yapıldı. Selenyum için ise 13 gün boyunca yine klorofil a (µg/ml), kuru/yaş madde analizi (g/L), optik yoğunluk ve Se metali birikim tespit analizi üç tekerrürlü olarak yapıldı.

2.2.6. Araştırma Süresince Takip Edilen Parametreler

2.2.6.1. Yaş (g/L) ve Kuru Madde (g/L) Tayini

Yaş kuru madde miktar tespitinin yapılması için erlenlerden cam pipet yardımıyla 10 ml alınarak 0.45 µm göz açıklığındaki filtre kağıtları, bir su trombu kullanılarak

oluşturulan vakumla yoğun hale getirilmiştir. Filtre kağıtları süzme işlemi yapılmadan 60 °C’de 30 dakika etüvde tutularak desikatöre almak suretiyle ortam sıcaklığına eş gelene kadar soğumaya bırakılmıştır. Soğuma işlemi bittikten sonra terazi yardımıyla ağırlıkları alınmış ve sonra süzme işlemi yapılmış, bu işlemde sonra filtre kağıtları tekrar tartılarak iki tartım arasında oluşan farkla yaş madde ağırlığı belirlenmiştir. Tartımdan sonra filtre kağıtları tekrar aynı ayardaki etüve konulmuş ve süre bitiminde desikatöre alınarak, ortam sıcaklığına ulaşınca kadar soğumaya bırakılıp tekrar terazi yardımıyla tartımı yapılmıştır. Örnekler filtre kağıdı’ nın tartım ağırlığından, yaşken yapılan tartım sonucuyla oluşan değerlerle ve kurutulduktan sonra yapılan tartım değerleri çıkarılıp kuru madde miktarları hesaplanılmış ve sonuçlar sütun grafiğine dökülmüştür. (Cirik ve Gökpınar, 1993).

2.2.6.2. Optik Yoğunluk Tespiti

Erlenlerden alınan 2’şer ml örnek spektrofotometre küvetlerine konularak, spektrofotometre kullanımı ile 400 nm’den başlanılarak her 50 nm’de bir ölçüm yapıp uygun dalga boyu aralığı 450 nm olarak tespit edilmiş ve sonraki optik yoğunluk okumaları bu dalga boyunda selenyum içeren besi yeri için 1’er gün arayla 13 gün, E vitamini içeren besi yeri için ise 1’er gün arayla ve 9 gün boyunca yapılmıştır. Optik yoğunluk okumalarında; çalışmada kullanılmakta olan her örneğe ait, aşılama yapılmayan boş besiyerleri kör olarak kullanılmıştır ve okumalar üç tekerrürlü olarak yapılmıştır.

2.2.6.3. Klorofil Analizi (µg/ml)

Sıvı kültürlerde klorofil analizleri 1’er gün aralıklarla selenyum tayininde 13 gün, E vitamini analizinde ise 9 gün boyunca yapılmıştır. Klorofil analizleri, Parson ve Stirickland metoduna göre tayin edilmiştir.

Sıvı kültürlerden 5’er ml örnek alınmış 0.45 µl por açıklığına sahip filtrelerden süzildükten sonra oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Nispeten kuruyan filtre kağıtları, üzerlerine 10 ml %90’lık aseton ilave edilmiş ve ağızları kapatılarak çalkalanmıştır. +4 °C’de buzdolabında 24 saat bekletildikten sonra çözünme süresi

sonunda supernatant kısımları alınarak spektrofotometrede %90 aseton körüne karşı 630 nm, 645 nm, 665 nm ve 750 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbensları üç tekrarlı okunmuştur. Hesaplamalar aşağıdaki formül yardımı ile yapılmıştır. (Parson ve Strickland, 1963)

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

v (ml) = Ekstraksiyonda kullanılan aseton hacmi

2.2.6.4. E Vitamini Tespiti

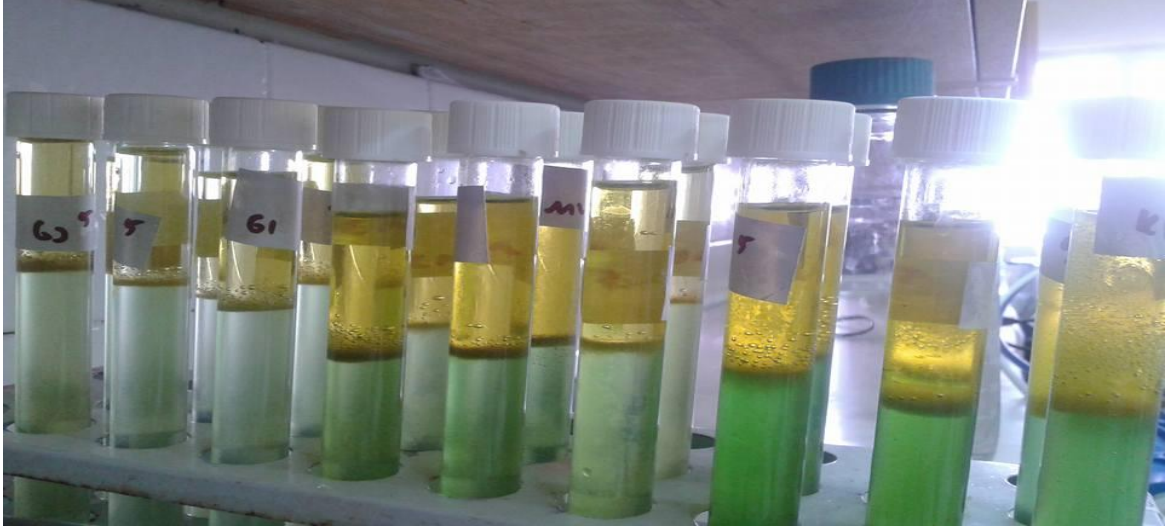
Alüminyum folyoyla izole edilmiş ½ besi oramı içeren 1000 ml'lik erlenlere üç farklı renk içeren (kırmızı, mavi, gün ışığı beyaz) led'ler ayrı ayrı sarılarak, deneyde spirulina ortamına göre gelişimi daha iyi görülen *Spirulina platensis* için schlösser ortamına 3 farklı dozda artan seri ile (1000 ml saf suda çözünmüş 5 mg E vitamini çözdürülerek, besiyerlerine 1 ml, 2 ml, 3 ml olmak üzere) E vitamini takviyesi yapılarak yeni bir besi ortamı oluşturuldu, 1., 3., 5., 7., 9. günlerde klorofil a, optik yoğunluk, kuru/yaş madde analizi yapıldı ve 1., 3., 5., 7., 9. günler 100'er ml örnek alımı yapılarak HPLC ile canlının sentezlediği E vitamini oranına üç tekrarlı olarak bakıldı.

2.2.6.4.1. HPLC Kullanımından Önce İzlenilen Yollar

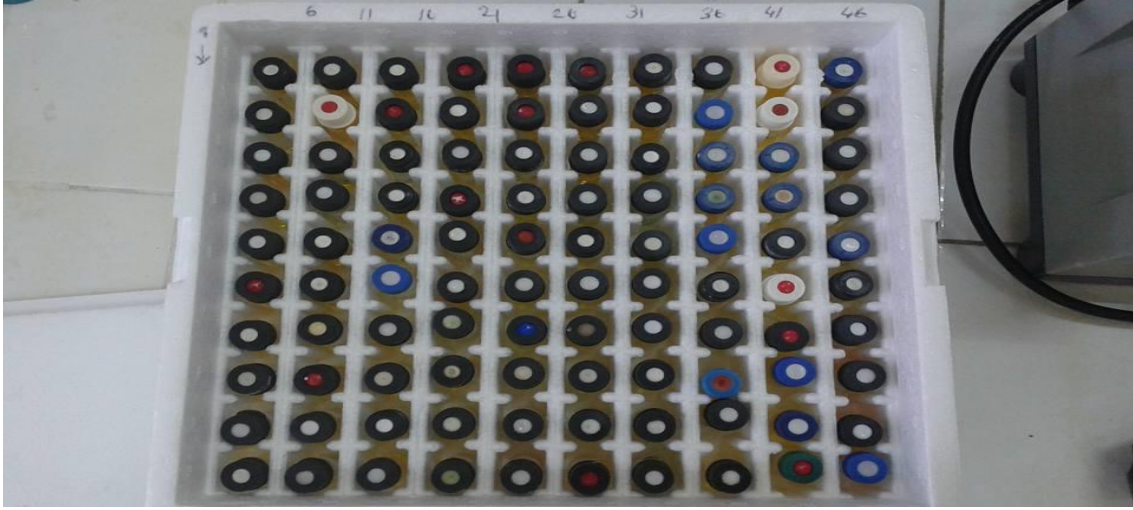
Farklı ışık faktörlerine ve E vitamini serilerine alınmış *Spirulina platensis*'lerden; 1., 3., 5., 7., 9., günlerde 100'er ml örnek alımı yapılarak iki ayrı 50 ml'lik falkon tüpüne eşit olarak paylaştırıldı. Örnekler santrifüj edilerek (10 dakika, 4°C'de, 7000 rpm'de) üst fazı döküldü. Pelet kısmına BHT'li HİP'den 5'er ml eklendi. Homajenizatörde 3'er dakika homojenize olması sağlandı. Tekrar santrifüj edilerek üst faz, kapaklı deney tüplerine alındı. 5'er ml metanol eklendi. Üzerine 5 ml %10' luk KOH çözeltisi ilave edilerek vortexlendi. 85 °C'ye ayarlı etüvde tüplerin kapakları açılarak 15 dakika beklenip, oda sıcaklığında soğumaya alındı. Üzerine 5 ml saf su, 5 ml BHP'li HİP eklendi ve alt üst edildi. Homojenizatörde 2-3 dakika homojenize edilerek tekrar santrifüj edildi ve üst fazlar deney tüplerine alındı. 5 ml metanol ilave edildi ve Şekil 2.6'da da görüldüğü gibi KOH

eklenerek vortexlendi. 85 °C'ye ayarlanmış etüvde 15 dakika kapakları açık bir şekilde beklenilerek, çıkarılıp oda sıcaklığında soğutuldu. Üzerine 5 ml saf su ve 5 ml BHT'li HİP konularak alt üst edildi. Oda sıcaklığında bir gün beklendikten sonra üst fazlar küçük deney tüplerine alınarak 35°C'ye ayarlanmış etüvde iki gün uçmaya bırakıldı. 50 ml metanol, 50 ml asetonitril uygun bir şişeye alınarak şişeden 1 ml alınıp örneklerle eklenerek vortexlendi. Daha sonra Şekil 2.7'de de görüldüğü gibi vortexlenen örneklerden 1 ml viallere alınarak HPLC yardımı ile 202 nm dalga boyunda E vitamini okuması yapıldı (Katsanidis ve Addis, 1999).

Son olarak hesaplama yapılarak 1 ml içerisindeki vitamin E değeri bulundu ve bu değer ug/mL olarak verildi.



Şekil 2.6. Örneklerin etüve alınmadan önceki hali



Şekil 2.7. Viallere örneklerin aktarılmış hali

2.2.6.5. Selenyum Tayini (ug/L)

Alüminyum folyoyla izole edilmiş $\frac{1}{2}$ besi ortamı içeren 1000 ml'lik erlenlere üç farklı renkteki led'ler ayrı ayrı sarılarak, spirulina ortamına göre daha iyi gelişimi gösteren *Spirulina platensis* için schlösser ortamına 3 farklı dozda artan seri (15 mg/L, 30 mg/L, 45 mg/L) ile selenyum ilavesi yapılarak yeni bir besi ortamı oluşturuldu, 1., 3., 5., 7., 9., 11., 13. günlerde klorofil a, optik yoğunluk, kuru/yaş madde analizi yapıldı ve 1., 3., 5., 7., 9., 11., 13. günlerde 2'şer ml örnek alımı yapılarak, örnekler teflonlara aktarılmak suretiyle üzerine 6 ml perklorik asit, 1 ml H_2SO_4 , 6 ml HNO_3 ilavesi yapıldı. Kimyasal ilavesinden sonra yarım saat beklenilerek teflon kapakları kapatıldı. Mikrodalgada yakılmak üzere cihaza yerleştirilerek; cihaz 25 dakika çalıştırıldı ve işlem tamamlandığında 10 dakika beklendikten sonra teflonlar cihazdan çıkarıldı ve çeker ocak altında kapaklar açılarak 5 dakika beklendi, işleme tabi tutulmuş *Spirulina platensis* 15 ml'lik kapaklı falkon tüplerine aktarıldı ve atomik absorpsiyon spektrometresi yardımıyla spektrofotometre enjektör sistemine 5 M'lık HCl, NaOH, $NaBH_4$ ile hazırlanmış solüsyonlar eklenerek dört farklı konsantrasyonda hazırlanan (1, 2, 5, ve 10 ppm'lik) standart çözeltiler yardımı ile cihaz kalibrasyonu sağlanarak, öncesinde falkon tüplerine alınan işleme tabi tutulmuş örneklerin okuması 196,00 nm dalga boyunda atomik absorpsiyon spektrofotometresi yardımıyla üç tekrarlı olarak yapıldı ve canlılığın absorbe ettiği Se miktarının günlere ve ışık renklerine bağlı değişimi izlendi.

2.2.6.6. Verilerin Değerlendirilmesi

Araştırma sonucunda elde edilen bütün değerler; Microsoft Office Excel 2010 programı ile elde edilen grafik ve verilere bağlı olarak değerlendirilmiştir.



3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Bulgular

Yapılan ön denemelerde en uygun yetiştirme koşulunu belirleyebilmek için led ışıklarla sırasıyla 12 V, 10 V, 8 V, 7.5 V olmak üzere uygun voltaj denemeleri yapılmış optik densisite okuması ile kültürün gelişimine en uygun voltajın 8 volt olduğu belirlenmiştir. (Led 3 çipli olarak tercih edildiğinden led başına ortalama 2.6 volt voltaj düşmüştür.)

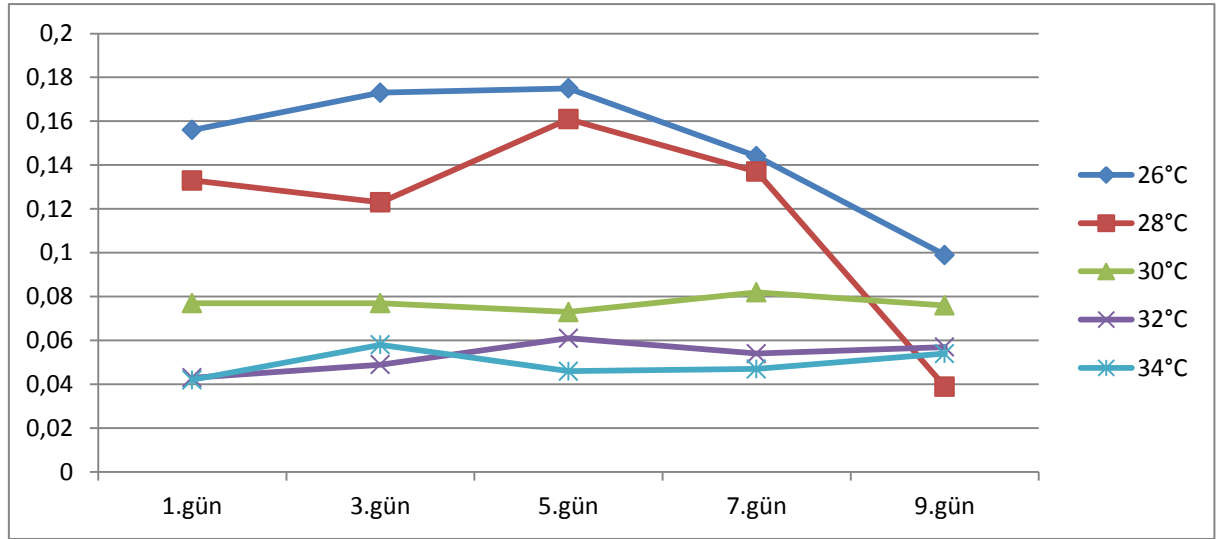
Doğrudan klasik led ışıklarda Şekil 3.1’de de gösterildiği gibi 12 volt ve 10 volt ile beslendiğinde ise *Spirulina platensis*’de fotoinhibisyon gözlemlenmiştir.



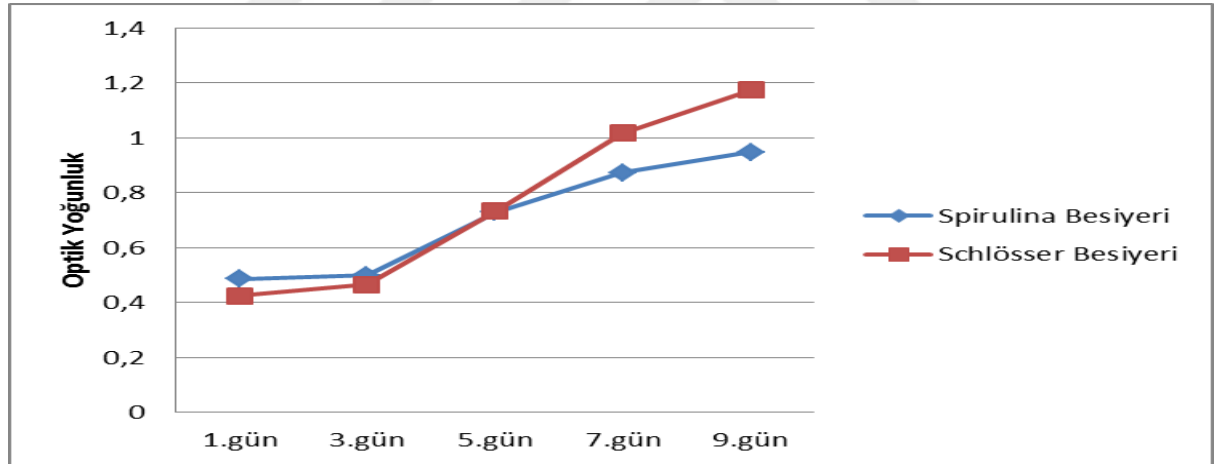
Şekil 3.1. 12 Volt'ta karşılaştığımız fotoinhibisyon

Denemelerde öncelikle *Spirulina platensis*’in gelişimine en uygun sıcaklık aralığını belirlemek için, çalkalamalı inkübatör 100 devir/dakika çalkalama hızına ayarlandı ve sıcaklıklar sırasıyla 24 ± 1 °C, 26 ± 1 °C, 28 ± 1 °C, 30 ± 1 °C, 32 ± 1 °C, 34 ± 1 °C’ye ayarlanarak 9 gün boyunca, *Spirulina platensis*’in optik yoğunluğu takip edilerek; kültür gelişimine en uygun sıcaklık Tablo 3.1 gösterildiği gibi 26 ± 1 °C olarak belirlenmiş ve kültür ortamına en uygun ortam ise Tablo 3.2’de de gösterildiği gibi schlösser ortamı olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.1. *Spirulina platensis* gün ışığı (beyaz) ışığa tabi tutularak 24 ± 1 °C, 26 ± 1 °C, 28 ± 1 °C, 30 ± 1 °C, 32 ± 1 °C, 34 ± 1 °C grubu optik yoğunluk değerleri



Tablo 3.2. *Spirulina platensis* için gün ışığı led ışıkta besiyeri karşılaştırma değerleri (optik yoğunluk)



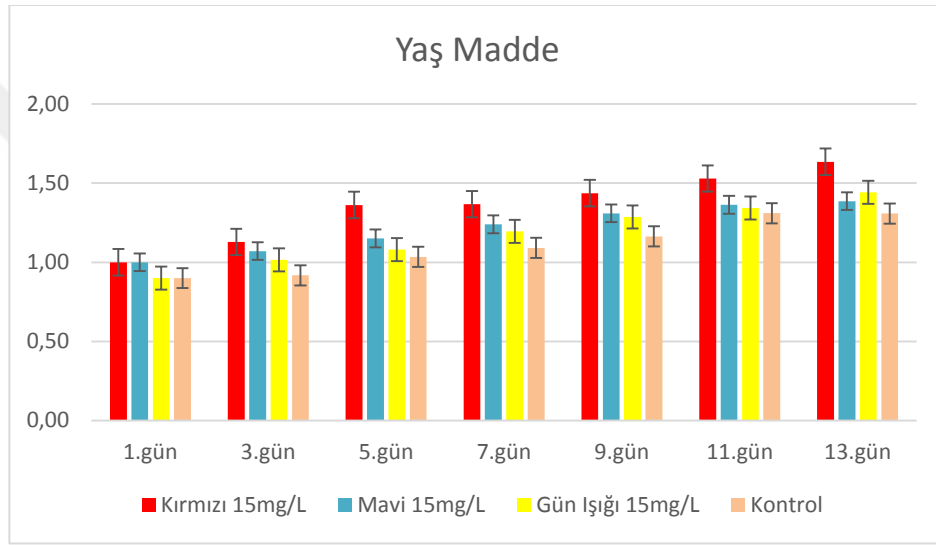
3.1.1. Üç Farklı Işık Rengi ve Üç Farklı Doz Selenyum İçeren Kültür Ortamlarının Büyüme Parametrelerine Etkileri

Uygulanan denemelerde selenyum dozları 15 mg/L, 30 mg/L, 45 mg/L olmak üzere üç farklı doz Na_2SeO_3 , üç farklı ışık rengi ve 26 ± 1 °C’de kültürlerdeki selenyum birikimi (ug/L) 13 gün boyunca ölçülmüştür.

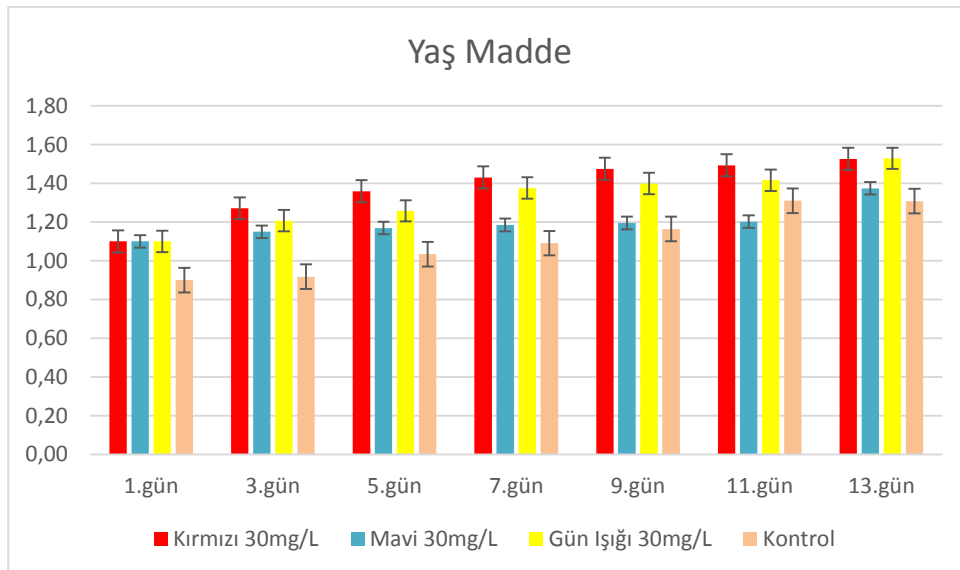
Aynı zamanda laboratuvar şartlarında üç farklı ışık dalga boyunda (kırmızı, mavi, gün ışığı), Na_2SeO_3 içeren (mg/L) ve kültüre alınan *Spirulina platensis*'in; yaş (g/L) ve kuru madde (g/L), optik yoğunluğu, klorofil-a miktarı ($\mu\text{g/L}$), tespit edilmiştir.

3.1.1.1. Yaş Madde (g/L)

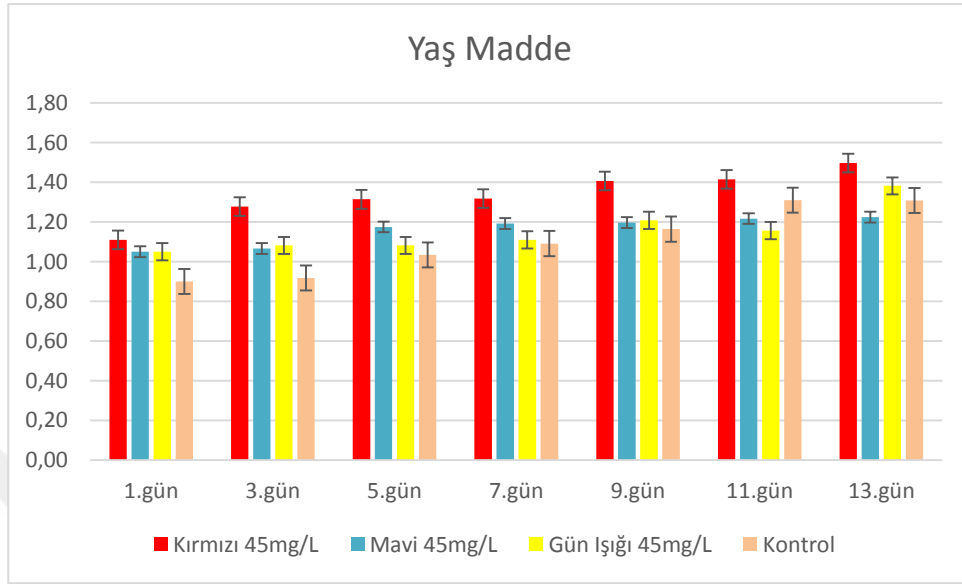
Tablo 3.3. 15 mg/L Na_2SeO_3 ilavesi ile led ışık kaynaklarının aydınlatıldığı kültürde günlere bağlı yaş madde miktarı değişimi



Tablo 3.4. 30 mg/L Na_2SeO_3 ilavesi ile led ışık kaynaklarının aydınlatıldığı kültürde günlere bağlı yaş madde miktarı değişimi



Tablo 3.5. 45 mg/L Na₂SeO₃ ilavesi ile led ışık kaynaklarının aydınlattığı kültürde günlere bağlı yaş madde miktarı değişimi



Üç farklı renkteki led ışıkla aydınlatılan ve üç farklı dozda selenyum ilave edilmiş kültürlerde 1. günden başlanılarak 13. gün boyunca ölçülen yaş madde miktarlarında düzenli artış gözlenmiştir.

On üç günlük kültür periyodunda kırmızı led ışık aydınlatması ile aydınlatılan ve 15 mg/L Na₂SeO₃ ilavesi yapılan grupta; diğer tüm gruplara oranla yaş madde birikiminin daha yoğun olduğu gözlenmiştir. Başlangıçta 1 gr olan yaş madde tartım değeri beşinci güne kadar hızlı bir artış göstererek beşinci gün 1,362 gr değerine ulaşmıştır ve son gün 1,635 gr değeri ile artmaya devam etmiştir.

Gün ışığı ile aydınlatılan ve 15 mg/L Na₂SeO₃ ilavesi yapılan grubun yaş madde biriktirme konsantrasyonunda ise Tablo 3.3'de de gösterildiği gibi 1. gün 0,90 gr okunurken 7. gün 1,196 gr ile günlere göre en yoğun artışı göstermiştir.

Kontrol grubuna oranla besiyerine 15 mg/L Na₂SeO₃ ilave edilen kırmızı ve gün ışığı aydınlatması bulunan gruplarda yaş madde birikimindeki artışın daha fazla olduğu gözlenmiş olup diğer gruplarda kontrol grubuna göre bu artış daha da azalmıştır.

Mavi renk led ışığı uygulamasında ise; kontrol grubuna oranla bu ışık renginin yaş madde birikimi tüm gruplarda daha az olmakla beraber, en fazla yaş madde birikimi 15 mg/L Na₂SeO₃ içeren ortamda gözlenmiştir.

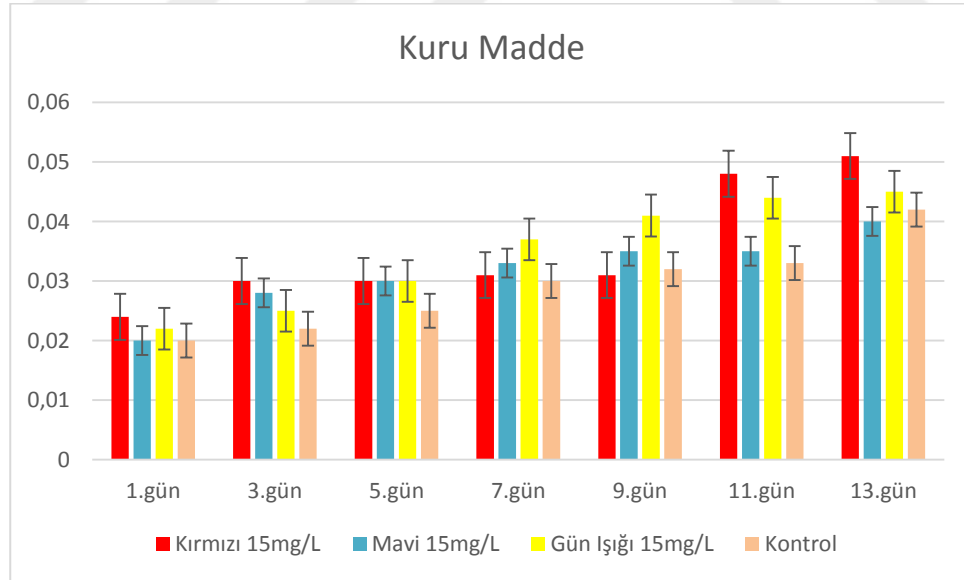
Deneme süreci sonunda tüm gruplarında yaş madde artışı gözlenmiş olup, ışık rengine bağlı olarak kırmızı ve gün ışığında, diğer dozlardan farklı olarak 15 mg/L Na_2SeO_3 ilave edilen gruplarda kontrol grubuna oranla yaş ağırlıklarının daha fazla olduğu tespit edildi. Tablo 3.3.'de görüldüğü gibi ilk güne oranla son gün en fazla madde artışı kırmızı ışıktaki ve 15 mg/L Na_2SeO_3 eklenen kültürde görülmüştür. Yaş madde birikimi miktarı en az mavi ışık ile aydınlatılan gruplarda tespit edilmiştir.

Araştırma sonucunda elde edilen veriler Tablo 3.3-3.5'de gösterilmiştir.

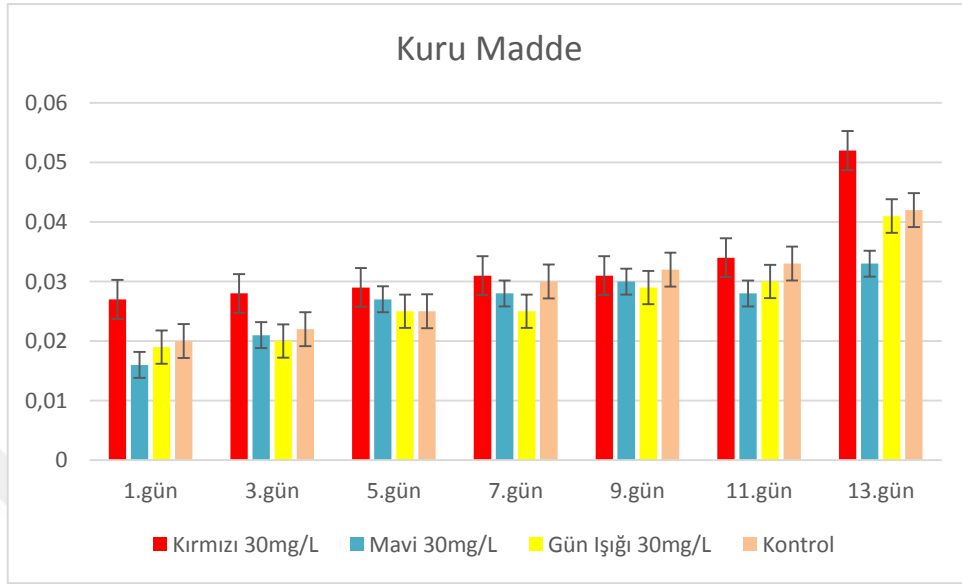
3.1.1.2.Kuru Madde (g/L)

Selenyum ilave edilmiş kültürlerde, 1. günden itibaren 13. gün boyunca kuru madde takibi yapılmış ve zamana göre değişim grafikleri verilmiştir.

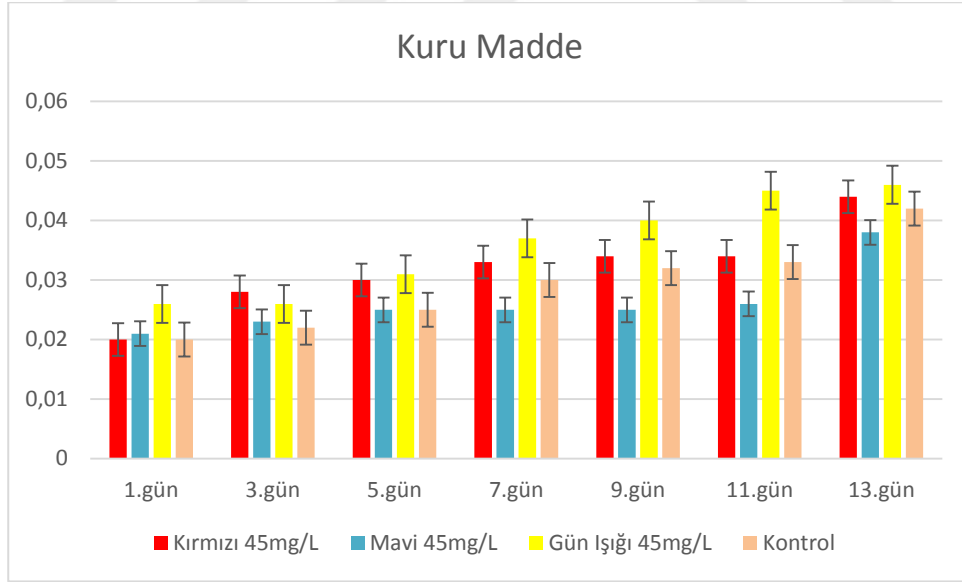
Tablo 3.6. 15 mg/L Na_2SeO_3 ilavesi ile farklı led ışık kaynağına bağlı kuru madde miktarının günlere göre değişimleri



Tablo 3.7. 30 mg/L Na₂SeO₃ ilavesi ile farklı led ışık kaynağına bağlı kuru madde miktarının günlere göre değişimleri



Tablo 3.8. 45 mg/L Na₂SeO₃ ilavesi ile farklı led ışık kaynağına bağlı kuru madde miktarının günlere göre değişimleri



Kırmızı led ışık uygulanan gruplarda kontrol grubuna oranla kuru madde miktarında daha fazla artış gözlenmiş, gün ışığı ve 15 mg/L selenyum ilave edilen grupta yine kontrol grubuna oranla daha fazla miktarda artış görülmüştür. Başlangıçta 0,024 gr olarak belirlenen grup 3. gün 0,030 gr olmuş ve 9. güne kadar artış değerinde sabit

denebilecek gr değişimleri göstermiştir. 11. gün ise 0,048 gr değeri ile ciddi bir artış göstererek bu değer 13. gün 0,051 gr olarak tespit edilmiştir.

Gün ışığı 15 mg/L Na₂SeO₃ ilave edilen grubun başlangıçta tartım değeri 0,022 gr iken son gün bu değer 0,045 gr olarak gözlenmiştir. Diğer gün ışığı ile aydınlatılan gruplarda ise kontrol grubuna oranla daha düşük oranda kuru madde artışı görölmüştür.

Kontrol grubuna oranla tüm kırmızı ışıkla aydınlatılan ve 15 mg/L Na₂SeO₃ ilave edilen kültürde daha fazla kuru madde artışı gözlenmiştir.

Mavi ışık ile aydınlatılan gruplarda kontrol grubuna oranla artış miktarında azalma tespit edilmiş olup tüm gruplarda başlangıca oranla kuru madde birikimi gözlenmiştir.

Çalışma sonucunda elde edilen veriler Tablo 3.6-3.8'de gösterilmiştir.

3.1.1.3. Optik Yoğunluk

Spirulina platensis için 450 nm dalga boyunda en yüksek absorbans değeri elde edilmiştir. Sonraki denemelerde ise bu dalga boyu ile optik yoğunluk okumaları yapılmıştır.

On üç günlük kültür periyodunda ışık renkleri ve farklı miktarda Na₂SeO₃ dozu içeren ortam arasında sonuç biyomas konsantrasyonu açısından fark vardır.

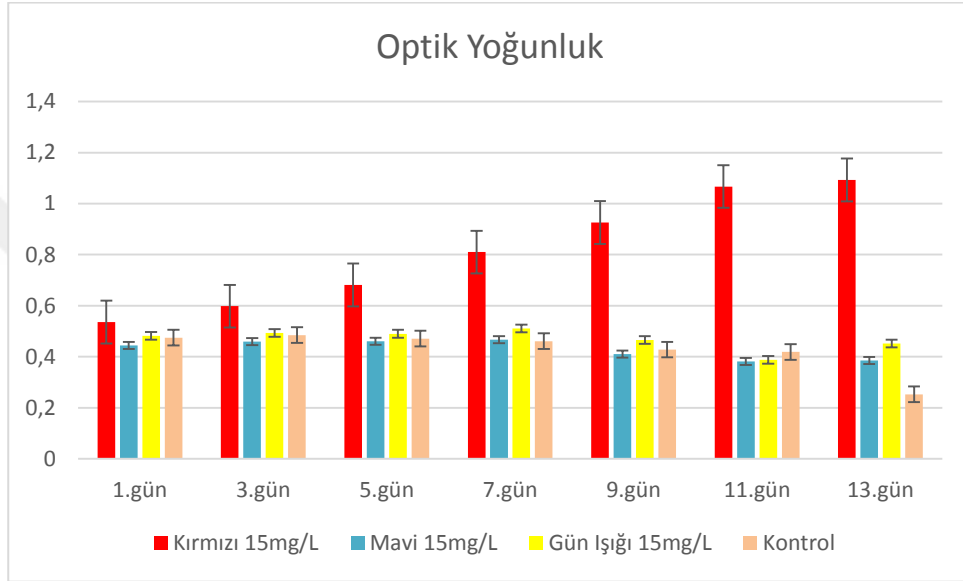
Üç farklı ışık rengi ve doz uygulamasında 26±1 °C sıcaklıkta, bütün gruplarda günlere bağlı logaritmik bir optik yoğunluk artışı gözlenirken diğer gruplara göre kontrol grubunda 5. gün ciddi bir düşüş göröldü ve sonraki günlerde ise diğer gruplardan farklı olarak kırmızı ışıkla aydınlatılan 15 mg/L ve 45 mg/L Na₂SeO₃ ilave edilen gruplar duraklama fazına girmemiştir. Miktersal olarak en düşük bölünme hızı mavi ışık içeren grupta gözlenirken, kırmızı ışıkla aydınlatılan gruplarda ise bölünme hızı en fazla olmuştur.

Kontrol grubu 3. gün sonunda 0,485 değerini göstererek sonraki ölçümde duraklama fazına girmiştir. Kırmızı ışık aydınlatmasında en yüksek yoğunluk 15 mg/L Na₂SeO₃ ilave edilen ortamda 13. gün 1,093 olarak elde edilmişken, mavi ışık 15mg/L'lik doz grubunda 7. gün 0,467 değeri ile gün ışığı ışık aydınlatmasında 15 mg/L Na₂SeO₃

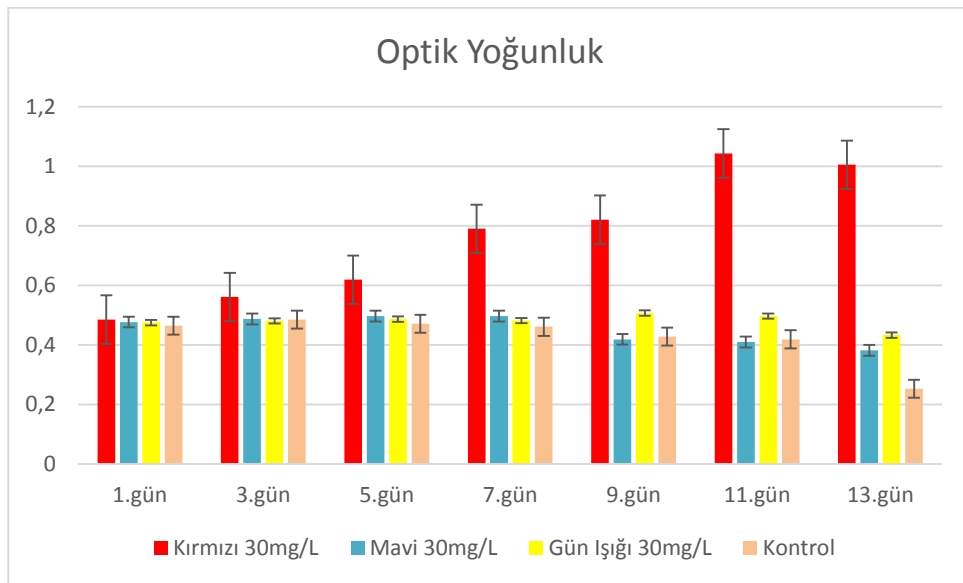
içeren grupta 7. gün 0,511 değerini göstererek kültürler en yüksek yoğunluklarına ulaşmışlardır.

Araştırma sonucunda değerlendirilen veriler Tablo 3.9-3.11’de gösterilmiştir.

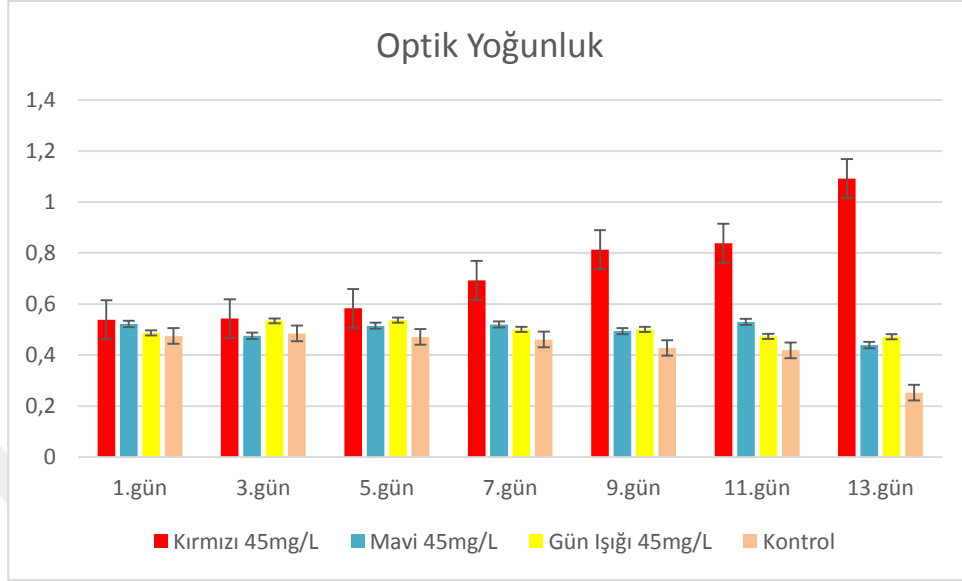
Tablo 3.9. 15 mg/L Na_2SeO_3 ilavesi ile farklı led ışık kaynağına bağlı optik yoğunluk miktarının günlere göre değişimleri



Tablo 3.10. 30 mg/L Na_2SeO_3 ilavesi ile farklı led ışık kaynağına bağlı optik yoğunluk miktarının günlere göre değişimleri



Tablo 3.11. 45 mg/L Na_2SeO_3 ilavesi farklı led ışık kaynağına bağlı günlük optik yoğunluk değişimleri



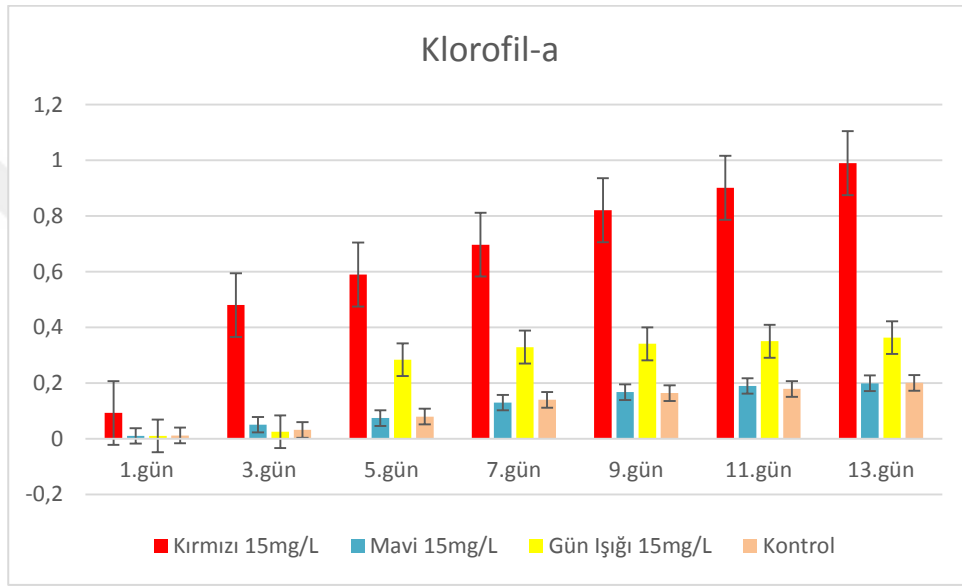
3.1.1.4. Klorofil-a



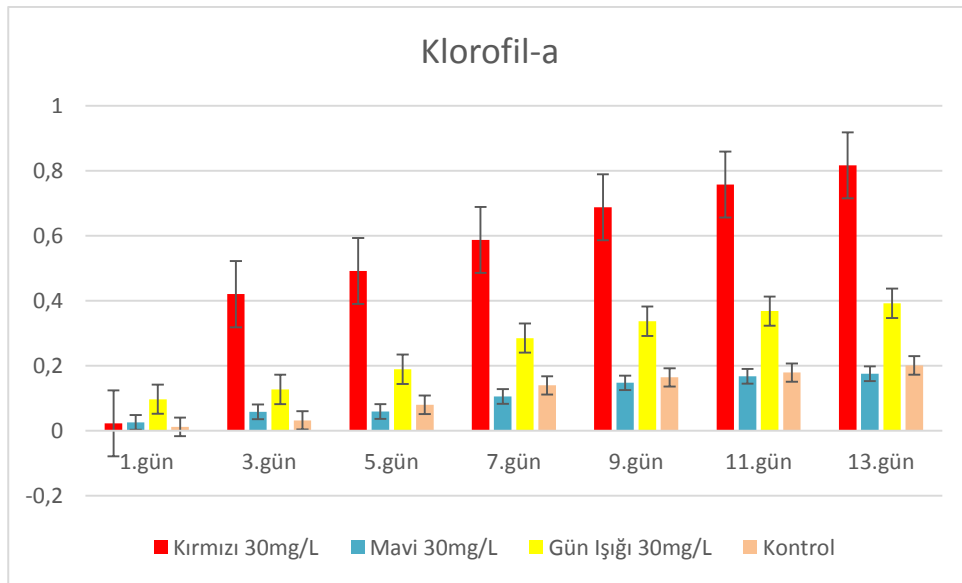
Şekil 3.2. Soldaki kültür mavi led ışık, ortadaki kültür kırmızı led ışık, sağdaki kültür ise gün ışığı led ışık aydınlatması ile aydınlatılan ortamların deney sonu fotoğrafları (15 mg/L Na_2SeO_3 'li ortamlar)

Spirulina platensis'in farklı miktarlarda Na_2SeO_3 ilavesine ve ışık rengine karşı gösterdiği klorofil a değişimlerinin tespiti 1. günden itibaren başlanılarak 1'er gün arayla dört farklı dalga boyunda (630, 645, 665, 750 nm) okunmuştur. Bu değişimler Tablo 3.12-3.14'de gösterilmektedir.

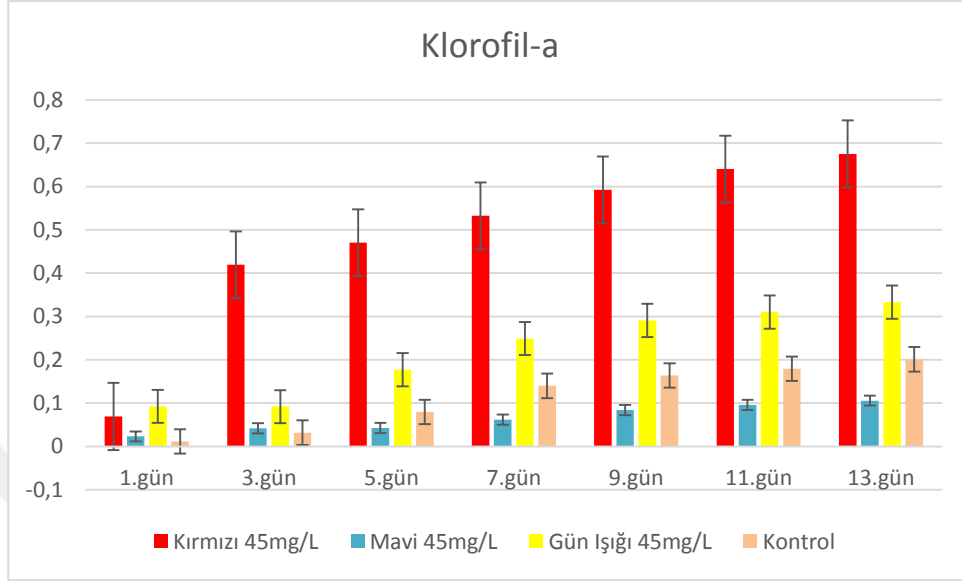
Tablo 3.12. 15 mg/L Na_2SeO_3 ilavesi ile ışık kaynaklarına bağlı kl-a'nın günlere göre değişim değerleri



Tablo 3.13. 30 mg/L Na_2SeO_3 ilavesi ile ışık kaynaklarına bağlı kl-a'nın günlere göre değişim değerleri



Tablo 3.14. 45 mg/L Na₂SeO₃ ilavesi ile ışık kaynaklarına bağlı kl-a'nın günlere göre değişim değerleri



Kırmızı led aydınlatması ile aydınlatılan grupların hepsinde diğer ışık renklerine oranla klorofil a oranlarında ciddi artış gözlenmiştir. En yüksek kl-a ise 15 mg/L Na₂SeO₃ ilave edilen grupta 13. gün 0,990 µg/ml gözlenmişken kendisini en yakın 30 mg/L ilave edilen grup son gün 0,817 değerine ulaşmıştır. Kontrol grubunda en yüksek değer 13. gün 0,201 µg/ml değeri iken 45 mg/L Na₂SeO₃ ilave edilmiş grupta son gün bu değer son gün 0,675 µg/ml olmuştur.

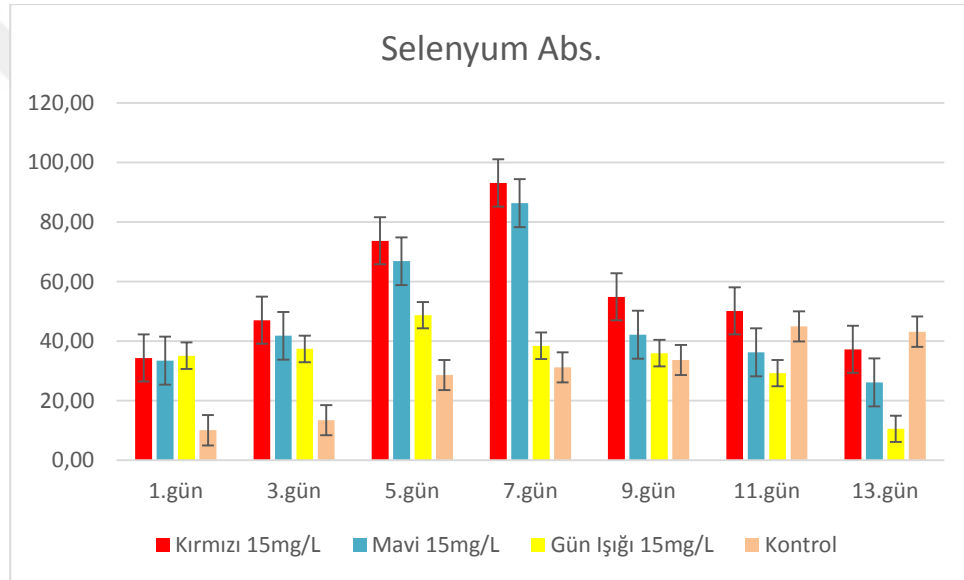
Mavi ışık grubunda ise; diğer ışık renklerine oranla en düşük değerlerde olmuştur. Bu ışık renginde de kırmızı led ışığı renginde olduğu gibi en fazla kl-a değeri 15 mg/L Na₂SeO₃ eklenilen grupta son gün 0,199 µg/ml değerinde görülmüştür. Gün ışığı led aydınlatmasında ise; diğer ışık renklerine benzer bir şekilde en yüksek kl-a değeri 15 mg/L Na₂SeO₃ içeren grupta 13. gün 0,363 µg/ml değerinde görülmüştür.

Her bir kültür ortamı için kırmızı ışıktaki klorofil a içerikleri daha yüksektir.

3.1.1.5. Selenyum Metal Birikimi (ug/L)

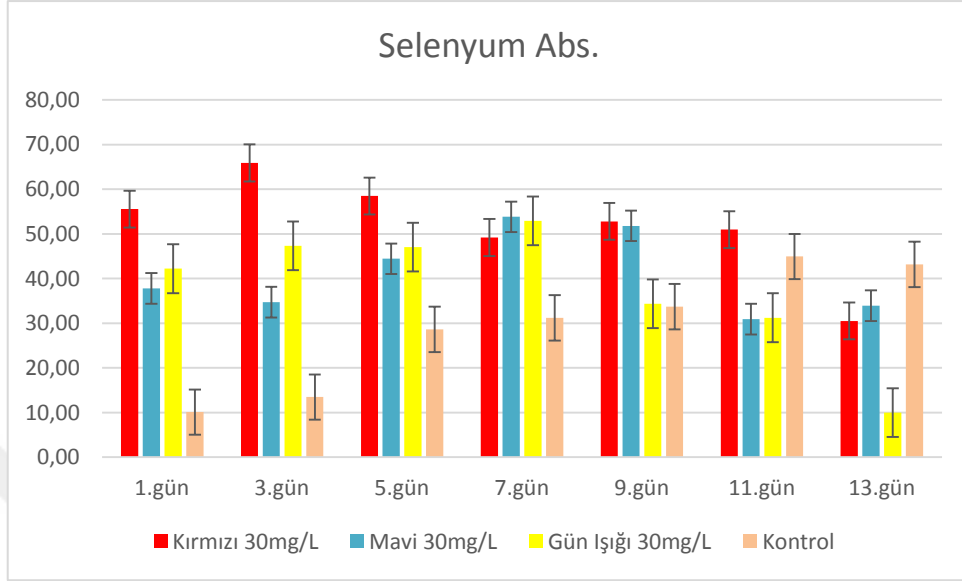
Kültür ortamlarında artan kademelerle farklı üç doz Na_2SeO_3 ilavesi ile üç farklı renk denemesi yapıldıktan hemen sonra *Spirulina platensis*'deki selenyum metali birikimine 1. günden itibaren 13 gün bakılarak takibi yapılmıştır. Çalışma sonucunda değerlendirilen veriler Tablo 3.15-3.17'de gösterilmiştir.

Tablo 3.15. Kültür ortamının günlere göre değişen Se absorbans değerlerinin, farklı led ışık kaynakları altına 1. gün ile 13. gün arası değişimleri

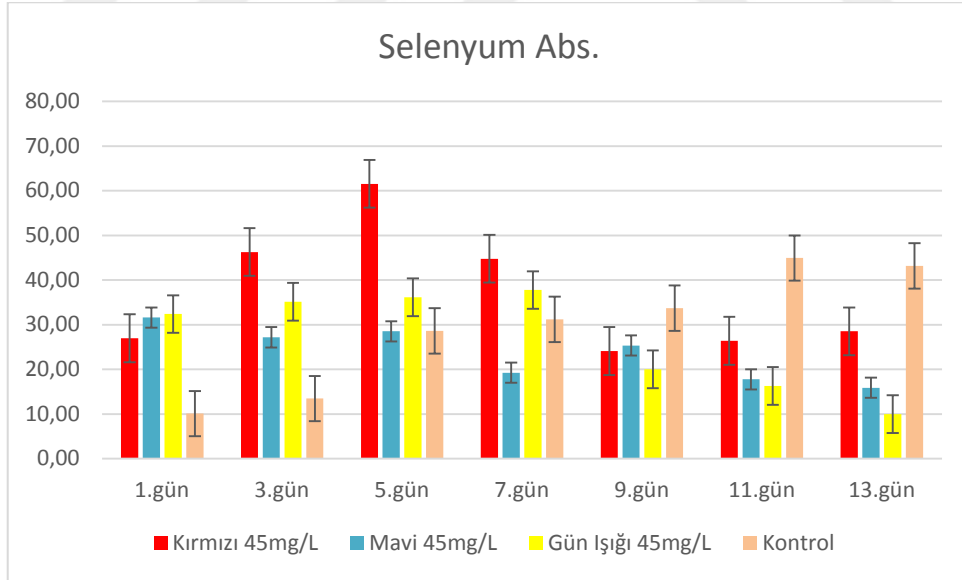


Kırmızı ışıkta ve 15 mg/L selenyum ilavesi olan kültürde 7. güne kadar ciddi bir selenyum birikimi gözlemlenmiş olup başlangıçta 34,37 ug/L olan değer 7. gün 92,13 ug/L'ye ulaşmıştır. Mavi ışıkta ve 15 mg/L Na_2SeO_3 ilave edilen grupta ise kontrol grubuna oranla daha fazla bir metal birikimi tespit edilmiş olup bu değer başlangıçta 33,5 ug/L olarak görülürken 7. gün 86,4 ug/L'e ulaşmıştır. Kontrol grubunda ise başlangıç değeri 10,09 ug/L olarak tespit edilen metal birikim verisi 11. güne kadar selenyum metal birikiminde düzenli bir artış gözlenerek 11. gün 44,93 ug/L değeri elde edilmiştir. Selenyum birikimi diğer deneme dozlarına ve standart kontrol grubuna oranla kırmızı ışıkta ve 15 mg/L selenyum dozu içeren grupta en fazla metal birikimi gözlenmiştir.

Tablo 3.16. Kültür ortamının günlere göre değişen Se absorbans değerlerinin, mavi led ışık kaynağı altına 1. gün ile 13. gün arası değişimleri



Tablo 3.17. Kültür ortamının günlere göre değişen Se absorbans değerlerinin, mavi led ışık kaynağı altına 1. gün ile 13. gün arası değişimleri



3.1.2. Üç Farklı Işık Rengi ve Üç Farklı Doz E vitamini İçeren Kültür Ortamlarının Büyüme Parametrelerine Etkileri

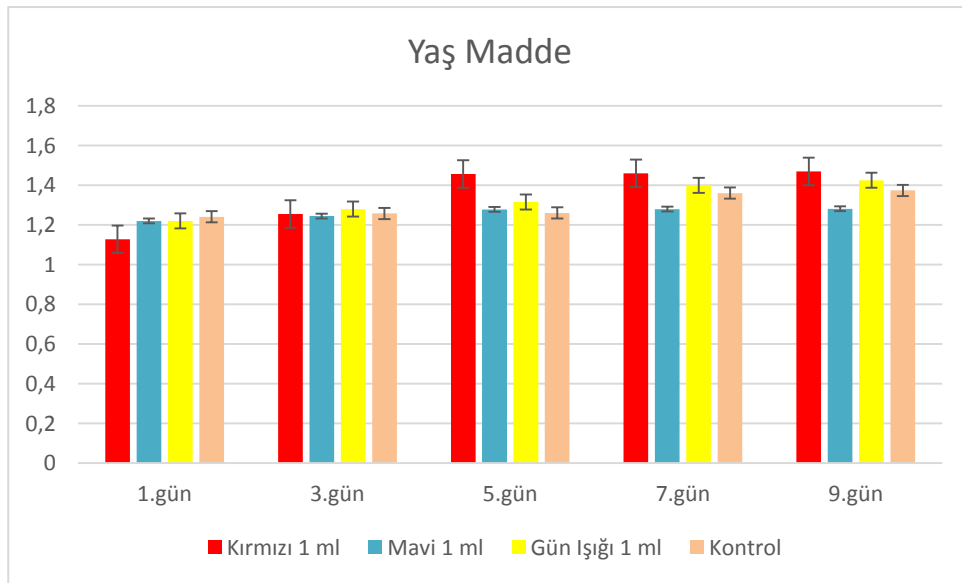
Üç farklı ışık renginde 26 ± 1 °C’de devamlı aydınlatılan ve 1 ml, 2 ml, 3 ml E vitamini ilave edilen kültürler HPLC’ de 202 nm dalga boyunda, 1’er gün aralıklarla 9 gün okutularak E vitaminindeki değişim miktarı gözlemlendi.

Aynı zamanda üç farklı ışıktaki (kırmızı, mavi, gün ışığı) ve E vitamini içeren kültürlerdeki *Spirulina platensis*’in; yaş (g/L) ve kuru madde (g/L), optik yoğunluğu, klorofil-a miktarı ($\mu\text{g/ml}$), takip edilmiştir.

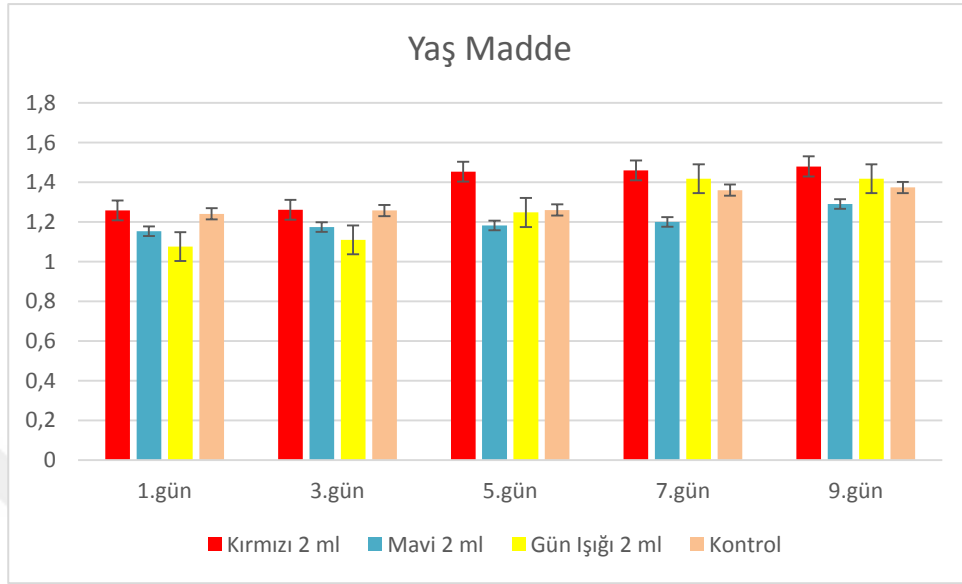
3.1.2.1. Yaş Madde (g/L)

Spirulina platensis’e farklı miktarlarda E vitamini uygulanmasında yaş madde değerleri 9. gün sonuna kadar bakılmış ve buna bağlı olarak zamanla değişim grafiği verilmiştir (Tablo 3.18-3.20).

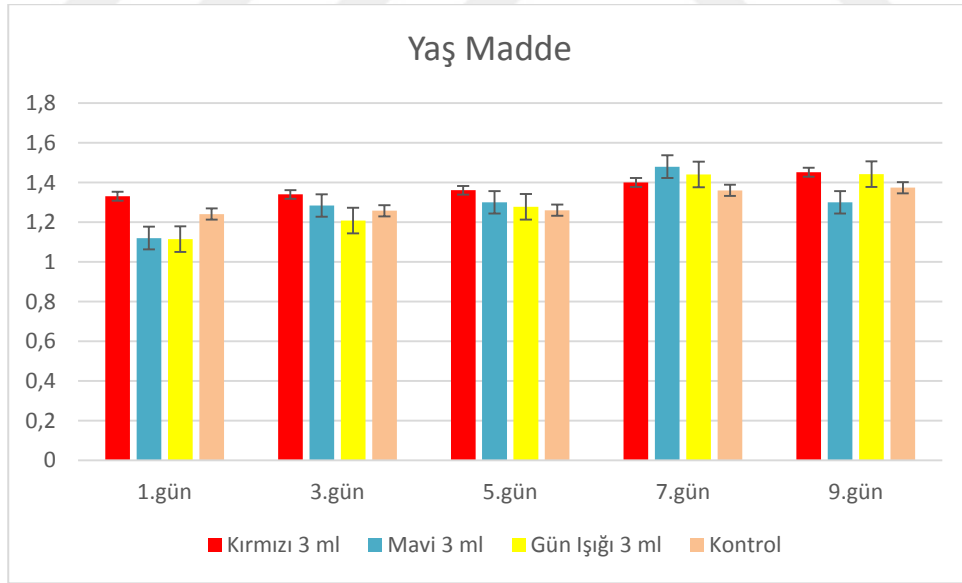
Tablo 3.18. 1 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık renklerine bağlı yaş madde miktarı değişimleri



Tablo 3.19. 2 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık renklerine bağlı yaş madde miktarı değişimleri



Tablo 3.20. 3 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık renklerine bağlı yaş madde miktarı değişimleri



Spirulina platensis'in miktarı kırmızı led ışıkta iken 1 ml E vitamini içeren besiyerindeki yaş madde miktarı; başlangıçta 1,127 g/L iken 9. günde 1,47 g/L'a ulaşmıştır. Diğer gruplara oranla en yüksek yaş madde birikimi bu grupta görülmüştür. Gün ışığı ve 2 ml E vitamini içeren besin ortamındaki değeri başlangıçta 1,076 g/L iken 9. gün bu değer 1,422 g/L olarak tespit edilmiştir. Mavi ışıkta ve 2 ml E vitamini içeren grup

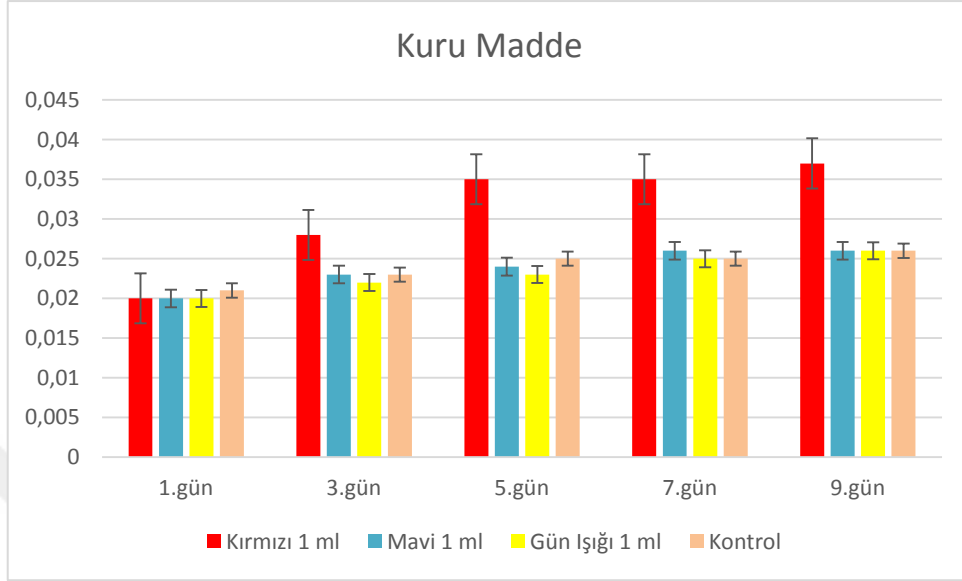
değeri 1. gün 1,153 g/L iken son gün bu değer 1,291 g/L'a ulaşmıştır. Elde edilen bu değerler kontrol grubuna oranla ciddi bir yaş madde birikimi farkı oluşturmuş olup kontrol grubunun başlangıçtaki değeri 1,241 g/L iken son gün bu oran 1,374 g/L olarak tespit edilmiştir.

Deneme süresi sonunda E vitamini ilave edilmiş tüm gruplarında yaş madde artışı gözlenmiştir. Fakat ışık renklerine bağlı olarak kırmızı ışık renginde 1 ml E vitamini ilavesi yapılan grupta en yüksek yaş madde artışı olmuştur. Gün ışığı aydınlatmasıyla 2 ml vitamin ilavesi yapılan grupta; diğer gün ışığı gruplarına oranla ve kontrol grubuna oranla daha fazla miktarda yaş madde birikimi olmuştur. Mavi ışıkta ise 2 ml E vitamini ilavesi yapılan ortamlarda diğer mavi ışıkla aydınlatılan gruplara göre daha fazla miktarda yaş madde birikimi gözlenmiştir. Işık renginin E vitamininin miktarına bağlı olarak yaş madde miktarını değiştirdiği tespit edilmiştir.

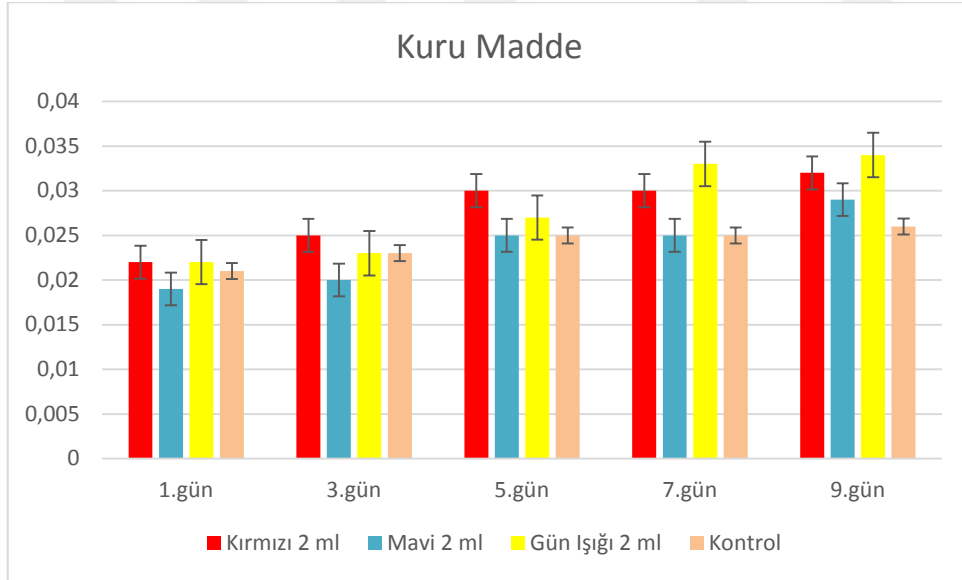
3.1.2.2. Kuru Madde (g/L)

Spirulina platensis'e farklı miktarlarda E vitamini uygulanmasında kuru madde değerleri 9. gün sonuna kadar bakılmış ve buna bağlı olarak zamanla değişim grafiği verilmiştir (Tablo 3.21-3.23).

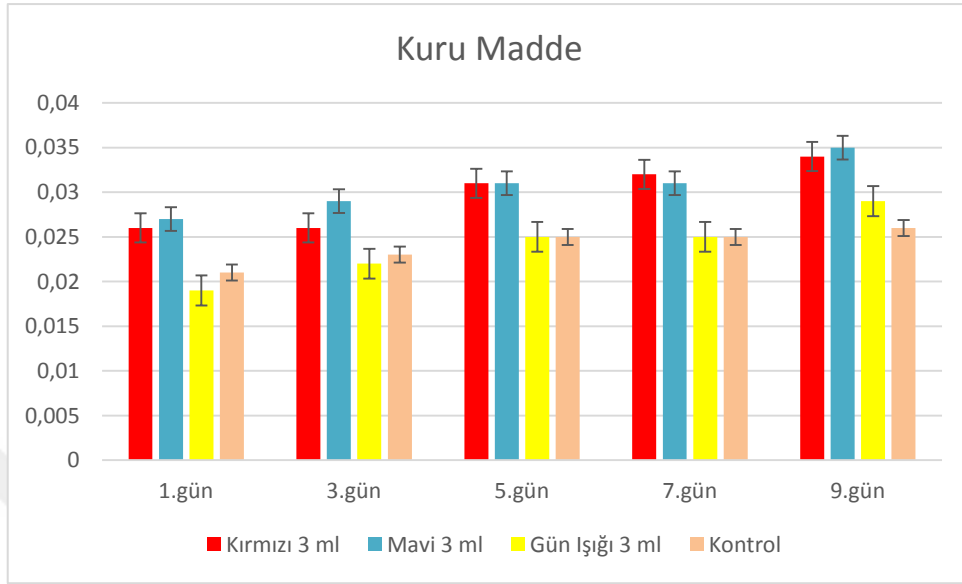
Tablo 3.21. 1 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı kuru madde miktarının günlere göre değişimleri



Tablo 3.22. 2 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı kuru madde miktarının günlere göre değişimleri



Tablo 3.23. 3 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı kuru madde miktarının günlere göre değişimleri



Kırmızı led ışık uygulamasında gruplar arasında en fazla kuru madde artışı 1 ml E vitamini içeren kültür ortamında gözlenmiştir. Başlangıçta 0,020 g/L değeri gözlenirken 9. gün sonunda bu değer bütün ışık renkleri ve buna bağlı kontrol gruplarına oranla daha fazla olmuştur (0,037 g/L). Kontrol grubunda ise ilk gün 0,024 g/L olan kuru madde değeri 9. gün 0,036 g/L'ye yükselmiştir.

Gün ışığı (beyaz led) uygulamasında 2 ml E vitamini içeren gruptaki kuru madde miktarı artışı kontrol grubuna oranla iki kat artmıştır. 1.gün 0,019 g/L olan değer son gün 0,029 g/L'ye ulaşmıştır. Benzer durum mavi ışık altında 2 ml E vitamini ilave edilen grupta da gözlenmiştir.

Mavi led ışıktaki ve 2 ml E vitamini ilave edilmiş kültürde kuru madde miktarı kontrol grubuna oranla iki kat daha fazla olmuştur. Mavi ışık ve 2 ml E vitamini ilave edilen grupta başlangıçta 0,019 g/L olan değer 9. gün 0,029 g/L olarak görülmüş, beyaz led ve 2 ml E vitamini uygulamasıyla paralellik göstermiştir. Kontrol grubunda ise bu değerler başlangıçta 0,021 g/L iken, son gün 0,026 g/L olarak tespit edilmiştir.

Bütün gruplarda E vitamini ilavesinde kuru madde miktarında kontrol grubuna göre artış olmuştur. Değerlere bakıldığında kırmızı ışıktaki ve 1 ml E vitamini ilave edilen kültürde daha fazla kuru madde artışı görülürken diğer iki ışıktaki, 2 ml E vitamini ilavesinde 9. gün artış miktarının daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Araştırma sonucunda elde edilen verilerin Tablo 3.21-3.23’de gösterilmiştir.

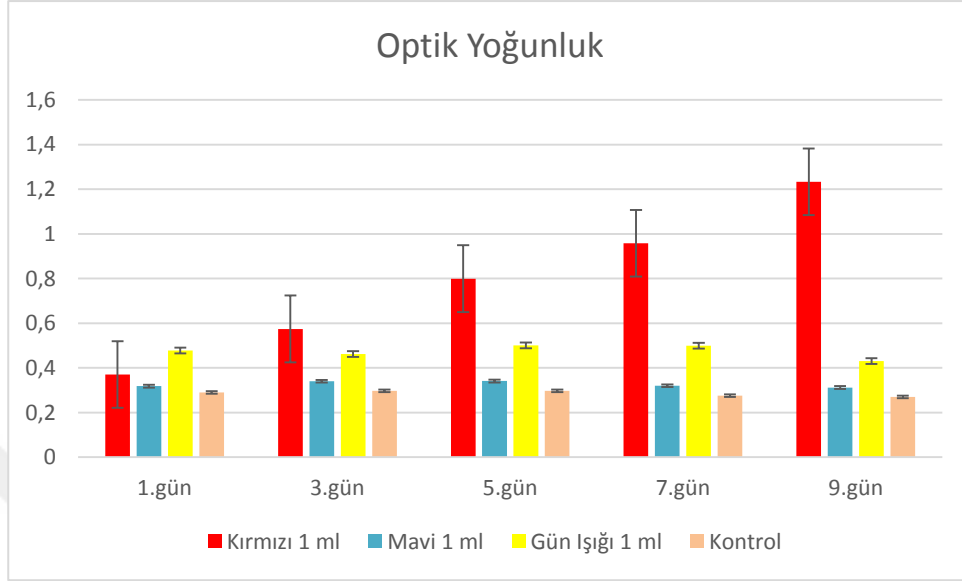
3.1.2.3. Optik Yoğunluk

Optik yoğunluk için ideal absorbans okuma değeri 450 nm olarak belirlenen ve bu dalga boyunda yapılan optik yoğunluk okumasında 1 ml E vitamini ilave edilmiş ve kırmızı ışık ile aydınlatılan kültür diğer kültür gruplarına oranla en yüksek değeri göstermiştir. Tüm gruplarda kontrol grubuna oranla E vitamini ilavesi, optik yoğunlukta artışa neden olmuştur. Kırmızı ışığın özellikle kültürdeki optik yoğunluk artışında diğer ışık renklerinden daha etkili olduğu görülmüştür.

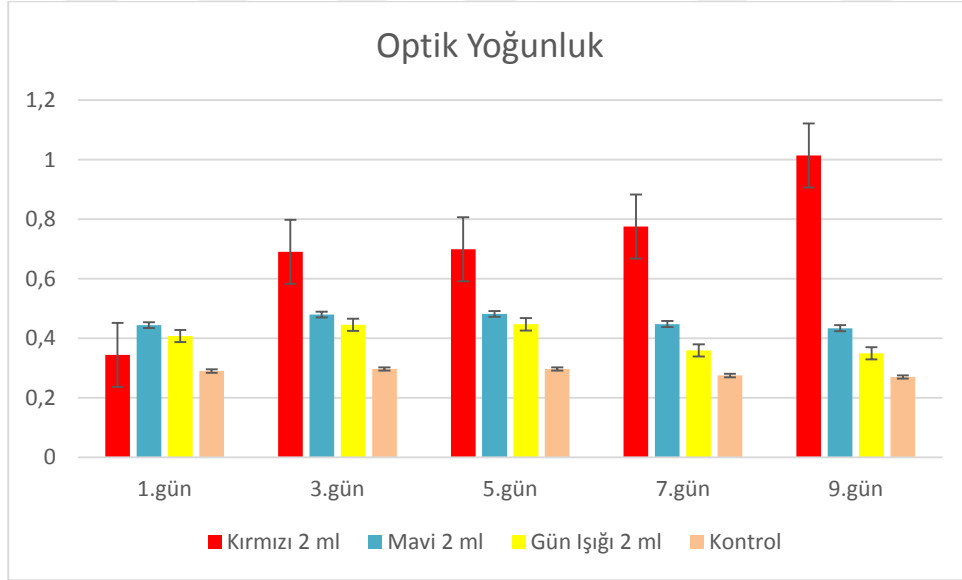
1 ml E vitamini ilave edilen ve kırmızı ışıkla aydınlatılan grup için ilk gün 0,370 olan veri değeri 9. gün 1,233 olmuştur. Tüm kırmızı ışık gruplarında 3 ml E vitamini ilave edilen ortam hariç herhangi bir duraklama fazına rastlanmamıştır ve tüm gruplara oranla en yüksek yoğunluk değeri 1 ml E vitamini ilave edilen kırmızı ışık grubunda gözlenmiştir. Kontrol grubunda başlangıçta 0,290 olan değer 7. gün 0,270 olarak tespit edilmiş ve sonrasında bu değer düşüşü görülmüştür. Tablolarda da görüldüğü üzere; mavi ışık aydınlatmasının bütün gruplarında 5. günden sonra gerileme safhası izlenmiş olup, gün ışığı için bu durum 3 ml E vitamini ilave edilen grupta 7. gün, diğer gruplarda ise 5. gün sonrasında görülmüştür.

Çalışma sonucunda elde edilen veriler Tablo 3.24-3.26’da gösterilmiştir.

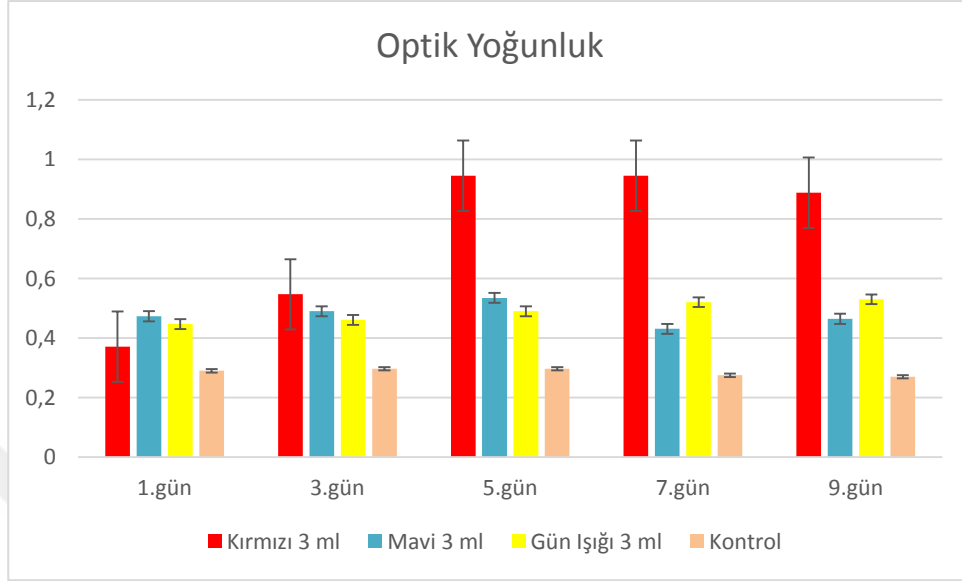
Tablo 3.24. 1 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı optik yoğunluk miktarının günlere göre değişimleri



Tablo 3.25. 2 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı optik yoğunluk miktarının günlere göre değişimleri



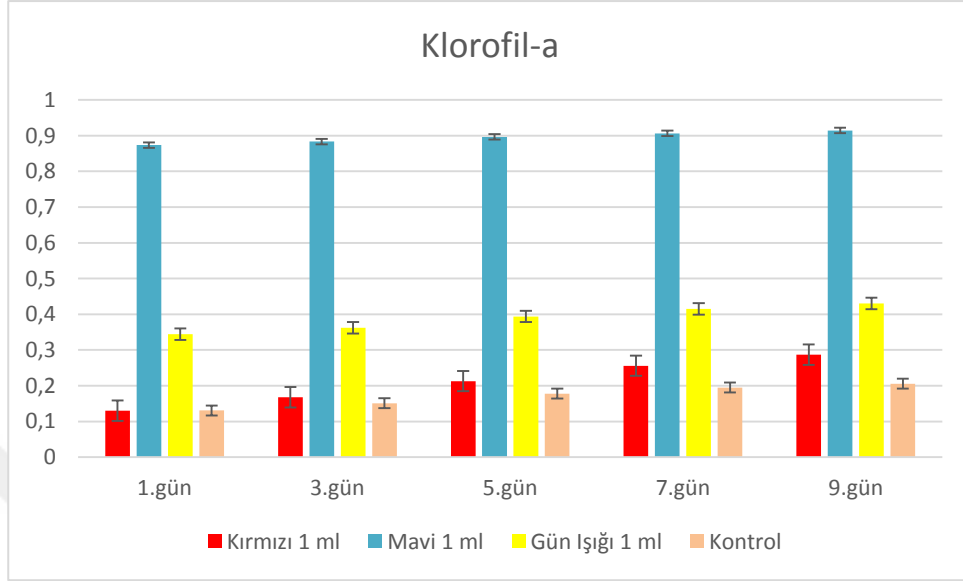
Tablo 3.26. 3 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı optik yoğunluk miktarının günlere göre değişimleri



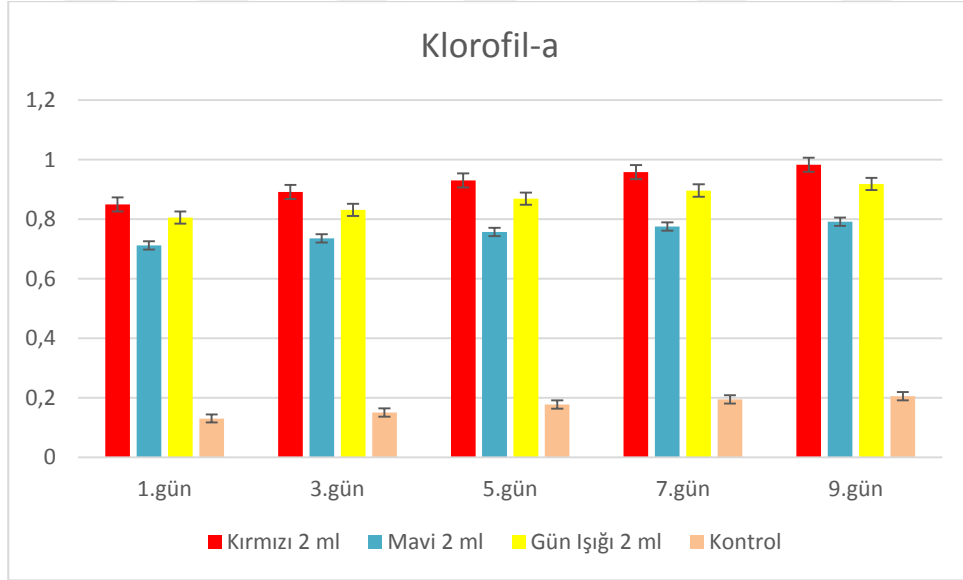
3.1.2.4. Klorofil a ($\mu\text{g/ml}$)

Besiyeri ortamına farklı miktarlarda ilave edilen E vitamini ve farklı ışık renklerindeki *Spirulina platensis* kültürlerinden 10'ar ml alınan örneklerde klorofil a değişimlerinin tespiti 1. günden itibaren 1'er gün arayla dört farklı dalga boyunda (630, 645, 665, 750 nm) okunmuştur. Bu değişimler Tablolar ile gösterilmektedir (Tablo3.27-3.29).

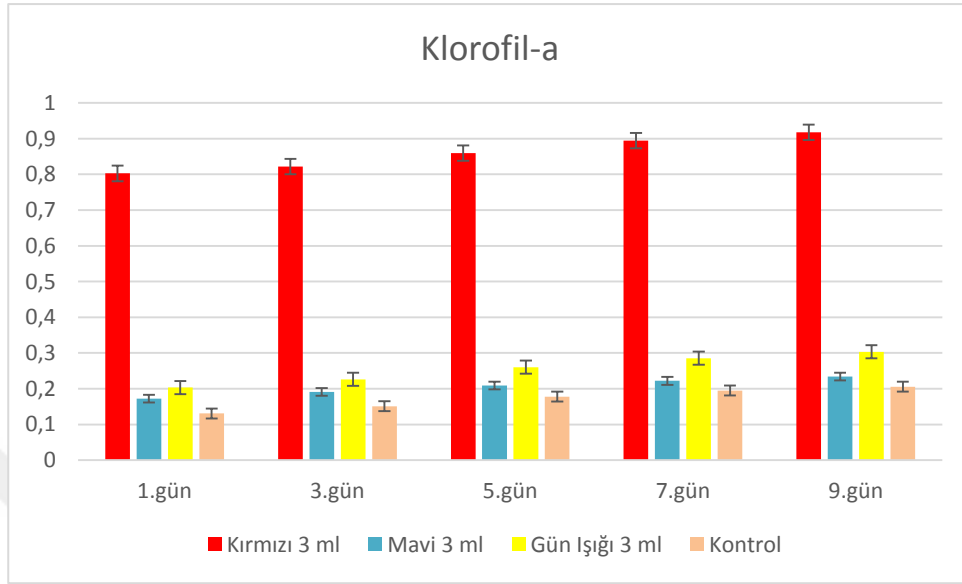
Tablo 3.27. 1 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı kl-a miktarının günlere göre değişimleri



Tablo 3.28. 2 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı kl-a miktarının günlere göre değişimleri



Tablo 3.29. 3 ml E vitamini ilavesi ile farklı led ışık kaynaklarına bağlı kl-a miktarının günlere göre değişimleri

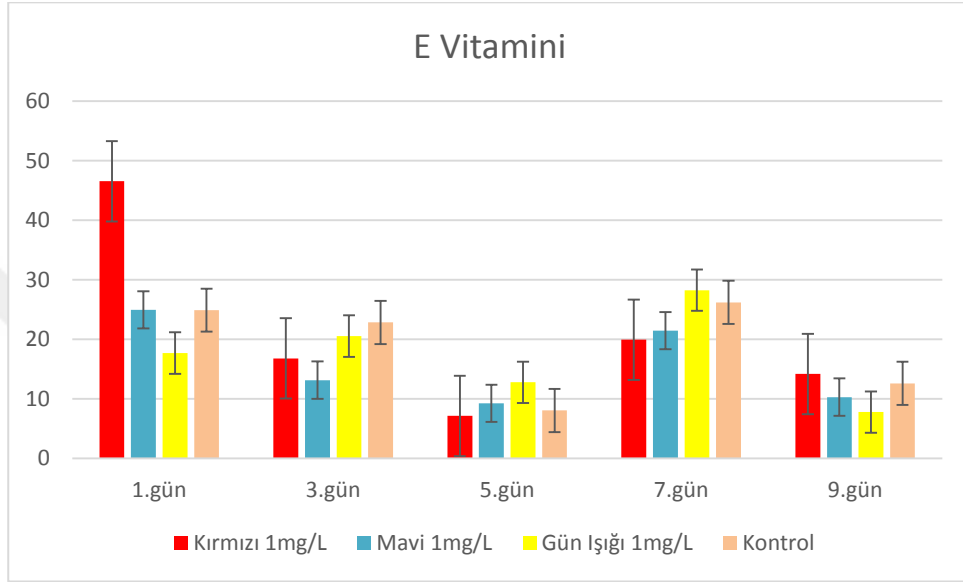


Kırmızı led ışıkla aydınlatılan grupların hepsinde, diğer ışık renklerine oranla klorofil a oranlarında artış gözlenmiştir. En yüksek klorofil a ise besin ortamına 1 ml E vitamini ilavesi yapılan kırmızı ışık ile aydınlatılan grupta gözlenmiştir. Başlangıçtaki 0,129 $\mu\text{g/ml}$ olan bu oran her gözlem günü artarak 9. gün 0,286 $\mu\text{g/ml}$ değerine ulaşmıştır. Tüm kırmızı ışıkla aydınlatılan gruplarda kontrol grubuna oranla klorofil a bakımından ciddi artışlar gözlenmiş olup kontrol grubu başlangıç değeri 0,130 $\mu\text{g/ml}$ iken son gün bu değer 0,205 $\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmiştir.

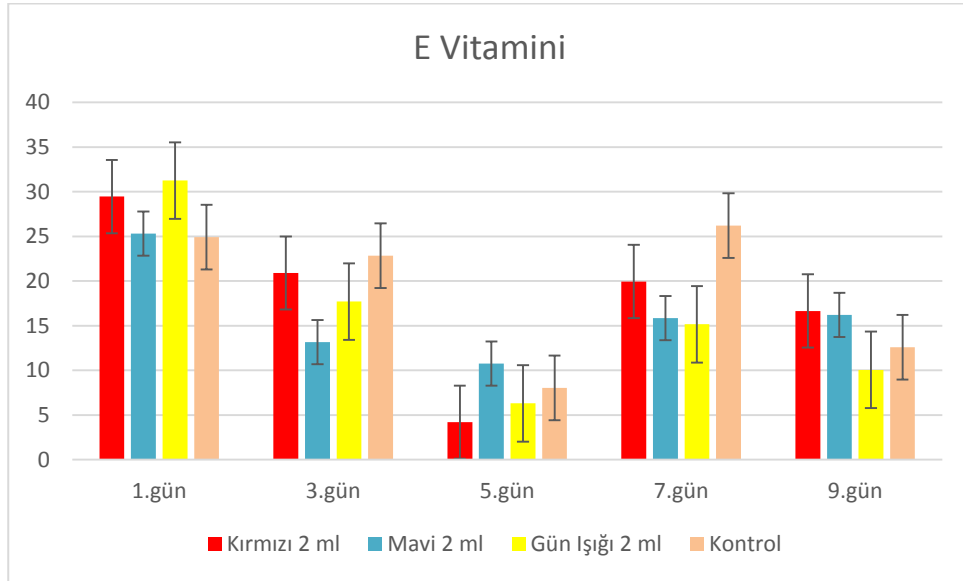
Gün ışığı gruplarında 2 ml E vitamini ilavesi yapılan grupta 1. gün 0,805 $\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilen değer 48 saatte bir son güne kadar artış göstererek son gün 0,918 $\mu\text{g/ml}$ 'e ulaşmıştır. Mavi ışık için ise diğer mavi ışık gruplarına oranla 2 ml E vitamini ilave edilen kültür ortamının başlangıçtaki klorofil a değeri; 0,712 $\mu\text{g/ml}$ iken her geçen gün artış göstererek son gün 0,791 $\mu\text{g/ml}$ olmuştur.

3.1.2.5. E vitamini ilave edilen Kùltür Ortamındaki E Vitamini'nin Gùnlük Değişimi (ug/mL)

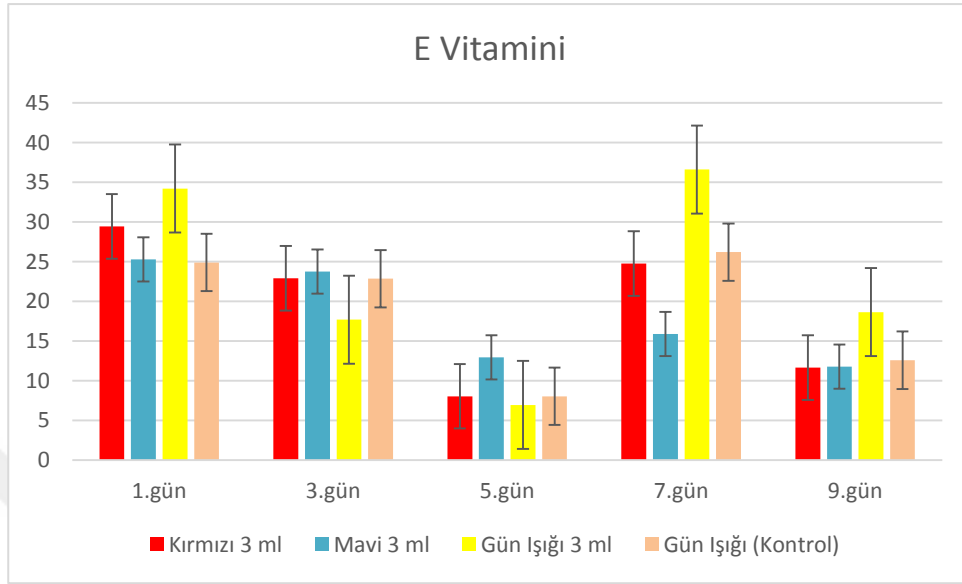
Tablo 3.30. Kùltür ortamının farklı led ışık kaynaklarında gùnlere ve 1 ml E vitamini miktarlarına bağlı değişim değerleri



Tablo 3.31. Kùltür ortamının farklı led ışık kaynaklarında gùnlere ve 2 ml E vitamini miktarlarına bağlı değişim değerleri



Tablo 3.32. Kültür ortamının farklı led ışık kaynaklarında günlere ve 3 ml E vitamini miktarlarına bağlı değişim değerleri



Kırmızı ışık kaynağında günlere bağlı olarak tespit edilen E vitamini miktarı 5. gün tüm gruplarda en düşük seviyeye ulaşmıştır. 1 ml E vitamini ilave edilmiş grupta, E vitaminindeki düşüş ilk güne oranla son gün, diğer gruplardan daha fazla olduğu gözlenmiştir (7,15 ug/mL). Tüm gruplarda 9. gün E vitamini miktarı değeri artmıştır.

Gün ışığı led aydınlatmasında ise; ilk 5 gün orantılı olarak düşüş gösteren E vitamini miktarı 7. gün bütün gruplarda artış göstermiş ve besiyerine 2 ml E vitamini eklenen grup hariç diğer gruplarda tüm günlere oranla 5. gün 6,95 ug/mL iken 7. gün 36,6 ug/mL ile en yüksek değere ulaşmıştır. 9. gün ise bütün gruplarda ilk gün tespit edilen E vitamini miktarından daha düşük bir değer elde edilmiştir.

Mavi led ile aydınlatılan *Spirulina platensis*'lerde; ilk ile beşinci gün arasında miktarsal düşüş bütün gruplarda tespit edilmiş 7. gün ise 5. gün'e oranla artış görülmüştür. Mavi ışık kaynağı altında 1 ml vitamin ilave edilen grupta başlangıçta 25,3 ug/mL olarak tespit edilen değer 7. gün 21,45 ug/mL olmuştur ve 9. gün bu değer 10,3 ug/mL olarak tespit edilerek tekrar düşüş göstermiştir.

Artan aralıklarla ilave edilen E vitamininin *Spirulina platensis* kültür ortamındaki miktarı sadece gün ışığı led ışık renginde 1 ml ve 3 ml E vitamini ilave edilen gruplarda 7. gün ilk güne oranla daha fazla bir artış göstererek, diğer renk ve konsantrasyon gruplarında

azalış göstermiştir. Tüm gruplarda ilk günle 5. gün aralığında miktarsal düşüş gösteren vitamin değeri 7. günde artmış, sonraki gün okumasında tekrar azalmıştır.

Araştırma sonucunda elde edilen veriler Tablo 3.30-3.32’de gösterilmiştir.



4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Son yıllarda mikroorganizmaların çeşitli alanlarda kullanımının yaygınlaşması üzerine farklı pek çok çalışma geliştirilmiş ve bu çalışmaların büyük bir ivmeyle arttığı gözlemlenmiştir.

Chen ve Lee (2012) yaptıkları çalışmalarında, *Spirulina platensis* Zarrouk ortamı kullanılarak kültürlenilmiş ve *Nannochloropsis oculata* için kültür ortamı olarak deniz suyu kullanılarak (35 ‰) zenginleştirmişlerdir. 24 ° C’de, 660 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık yoğunluğu ve 12:12 ışık dönemleri (Işık: Koyu) çeşitli ışık yoğunlukları floresan ışık, led ışık ve doğal ışık kullanarak gelişimini gözlemlemişlerdir. Sonuçta beyaz led ışığın, geleneksel florason ışığa göre çok daha uygun olduğunu belirterek; led’lerin elektrik maliyetleri ve kullanımında büyük tasarruf sağladığından florasan ışık yerine kullanılabileceğini söylemişlerdir.

Bu bilgiler bütünlüğünde ışık kaynağının farklılığının ve ışık renklerinin kültür gelişimi için önem arz ettiği açıktır. Aynı zamanda kültür ortamına ilave edilen herhangi bir antioksidan içerikli yapının canlının gelişiminde değişime sebep olacağı bilinmektedir. Bizim çalışmamızda da schlösser ortamına, farklı miktarlarda antioksidan (Na_2SeO_3 , E vitamini) ilavesiyle, *Spirulina platensis*’in farklı renklerdeki ışıklarla aydınlatılmasıyla gelişimi gözlemlenmiştir. Gelişim parametreleri ile bütünlük oluşturulması açısından her bir parametre kendi içinde tartışılmıştır.

4.1. Yaş Madde (g/L) ve Kuru Madde (g/L)

Li vd., (2003)’de; *Spirulina platensis*’in gelişimi üzerine selenyum’un biyo etkisini görmek için yaptıkları çalışmada; 35 °C’de 400 mg/L’lik Na_2SeO_3 konsantrasyonu altında alg büyümesini uyardığını tespit ederek, özellikle 0,5-40 mg/L’de alg büyümesini teşvik ettiğini bulmuşlardır ancak 500 mg/L Na_2SeO_3 dozununun alg için toksik etki yaptığını söylemişlerdir. Bu çalışmada da selenyum dozunun 15-30-45’er mg/L ile kısıtlı tutulduğu kültür ortamlarında ve E vitamini ile hazırlanan kültürler için yaptığımız araştırma

sonucu yaş madde bakımından; kırmızı led ışık altında 15 mg/L Na_2SeO_3 ilave edilmiş grupta yaş madde miktarındaki artış gün ışığı 15 mg/L Na_2SeO_3 eklenilen gruba oranla daha fazla olmuşken diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında bütün gruplarda yaş madde artışının ilk güne oranla son güne kadar arttığı gözlenmiştir. Mavi ışık renklerinde diğer ışık rengine kıyasla daha az yaş madde birikimi olduğu tespit edilmiştir.

Hem Na_2SeO_3 hemde E vitamini ilave edilen kültür ortamlarında da kırmızı led ışık ile aydınlatmada diğer renklere oranla daha yüksek miktarda yaş madde artışı saptanmıştır. Selenyum 15 mg/L'lik ilavede tüm deneylere ve ilk güne oranla en yüksek yaş madde miktarına ulaştığı gözlenirken E vitamini deneyinde ise; kırmızı ışıktaki kontrol grubuna oranla 1 ml E vitamini ilavesinde diğer ışık renklerinde ise 2 ml E vitamini ilavesinde yaş madde ile ilgili yapılan tartım değerlerinde artış gözlenmiştir.

Kuru madde miktarı için yapılan analiz sonuçlarında ise; selenyum uygulanan kırmızı ışığın diğer aydınlatma renklerine göre daha yüksek miktarda kuru madde birikimiyle sonuçlandığı görülmüştür. Kırmızı ışık altında 15 mg/L Se ilavesi sonucu ilk günden son güne oranla tüm gruplardan daha fazla artış olduğu saptanmıştır. E vitamininin eklendiği tüm ışık gruplarında kuru maddeyi artış olarak desteklediği gözlenmiştir. Bu tespit en fazla 1ml E vitamini uygulanan kırmızı ışık grubunda görülmüştür. Schlösser besin ortamına Se kaynağı ilavesinin E vitamini ilavesine göre tüm gruplarda kuru madde miktarını daha fazla arttırdığı görülmüştür.

Kuru madde miktarı tüm deney grupları için her geçen gün artış göstermiş. Kontrol grupları mukayese edildiğinde kırmızı ışıktaki artış tüm gruplarda en fazla olmuştur.

Kültür ortamında kullanılan ışığın türü ve renginin, mikroalglerin büyümesi üzerine etkisi olduğu bilinmektedir (Wang vd., 2007). Bizim araştırmamızda da led ışık kaynakları renklerine bağlı olarak yaş ve kuru madde miktarlarında farklılıklar gözlenmiştir.

Tüm fotosentez yapan canlılarda olduğu gibi alglerde de fotosentez yapılabilmesinde ışık şiddetinin ciddi önemli olduğu bilinen bir gerçektir. Yagui ve arkadaşları (2004) yaptıkları çalışmada üç farklı ışık şiddetine maruz bırakılan *S. platensis* örneklerindeki klorofil pigmenti ile diğer büyüme parametrelerini karşılaştırarak ışık faktörünün önemli olduğunu ortaya koymuşlardır (Kendirlioğlu, 2012).

Bu çalışmada; her iki parametre için, kırmızı ışığın en uygun ışık rengi olduğu tespit edilmiştir.

4.2. Optik Yoğunluk

Wang vd., (2007), *Spirulina platensis*'in kültürü üzerinde led'lerin etkisi adlı çalışmalarında: kullandıkları farklı renklerdeki led'lerin 6 gün boyunca 30 °C' de, 120 rpm çalkalama hızında çalkalamalı inkübatöre, çeşitli ışık şiddetleri ile beş farklı renk led (300, 750, 1500, 2250 ve 3000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) uygulamışlardır. Deney sonuçlarında, kırmızı led 3000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ koşul altında en yüksek spesifik büyüme oranını sergilediğini tespit etmiş ve mavi led ışıkta biyomas artışı için fotonun dönüşüm verimliliğinin en az olduğunu söylemişlerdir. Bu çalışmada da; her iki deney sonucunda kırmızı ışık uygulanan kültürlerin, mavi ışık uygulanan kültürlerle göre daha fazla büyüme gösterdiği görülmüştür.

Lee vd., (2015); *Spirulina platensis* hücre kültürünü sürekli aydınlatarak, 28±0.5 °C, pH 9.0 fotoototrofik koşullar altında, manyetik bir karıştırıcı (150 rpm) ile karıştırılan, mavi, kırmızı led ve her iki ışık rengi kullanılarak kültür ortamı oluşturmuşlardır. *Spirulina platensis*'in büyüme oranını, kırmızı led (660 nm) altında daha yüksek olduğunu bulmuştur. Biyomas için enerji yönünden ekonomik verimliliği karşılaştırdığı çalışmalarında, kırmızı led kullanımı fotoototrofik ekimi için en etkili sonucu verdiğini bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da; benzer şekilde kırmızı ışığın kültürlerdeki büyüme oranını arttırdığı, ancak mavi ışıkta ise bu oranin ciddi anlamda azaldığı görülmüştür.

Işık renginin büyüme ile ilgili önemine bakıldığında bu çalışmada da farklı renklerle aydınlatılan *Spirulina platensis* için ayrı ayrı uygulanan 3'er farklı doz E vitamini ve Na₂SeO₃'nin besiyerine ilavesinde, 1'er gün arayla gözlemlenen optik yoğunluk için; bütün gruplara oranla, kırmızı şerit led ışık altında aydınlatılan kültürlerin optik yoğunluk bakımından ulaşılan değerlerin daha yüksek olduğu gözlenmiş olup; kırmızı ışıkla aydınlatılan kültüre 1 ve 2 ml E vitamini ilavesinde 9. gün sonuna kadar optik yoğunluk artışının devam ettiği, 3 ml vitamin ilave edilen ortamda ise 5. günden sonra durgunluk evresine ulaşıldığı aynı durumun kontrol grubunda ise 3. gün itibariyle gözlemlendiği görülmüştür. E vitaminin ışık renklerine bağlı olarak optik yoğunluğu etkilediği bulgulara da anlatıldığı üzere açıktır.

Na₂SeO₃ ilave edilen gruplar için optik yoğunluk, kırmızı led ışık altında Na₂SeO₃ uygulanmasında son güne kadar tüm gruplarda optik yoğunluk bakımından artış gözlenirken, kontrol grubu 3. gün itibariyle duraklama safhasına girmiştir. Diğer iki ışık rengi mukayese edildiğinde farklı olarak gün ışığı led ile aydınlatılan 45 mg/L Na₂SeO₃

içeren grup diğer gruplara oranla 5. güne kadar en hızlı büyümeyi göstermiş ve konsantrasyon bakımından mavi ışık aydınlatmasının tüm gruplarına göre daha az konsantrasyona ulaştığı ancak kontrol grubuna göre optik konsantrasyonda 45 mg/L Na_2SeO_3 içeren grup hariç daha fazla artış farkı gözlemlenmiştir. Gün ışığı ışık renginde selenyum uygulanan tüm gruplarda kontrol grubunun gelişim oranına göre büyük bir fark görülmemiş ve mavi ışığa oranla daha fazla optik yoğunluğa ulaştığı saptanmıştır. Mavi ve gün ışığı altında besin ortamına Na_2SeO_3 eklenmesi kontrol grubu ile mukayese edildiğinde selenyumun optik yoğunluğu etkilediği görülmüştür. Na_2SeO_3 ilavesinin optik yoğunluk bakımından önemli olduğu izlenmiş olup, ışık renklerinin optik yoğunluğa etki ettiği görülmüştür.

4.3. Klorofil-a

Matthijs vd., (1995); 1.6, 2.1 ve 2.4 V led ışık uygulanan *Chlorella pyrenoidosa*'nin (Emerson suşu) gelişimleri üzerinde yaptıkları çalışmada; kırmızı ışığın klorofil-a ve klorofil-b'nin uyarılması için en uygun ışık rengi olduğunu belirtmişlerdir. Mavi ışığın ise sadece birçok bitki ve alglerde, klorofil için gerekli görülmediği, ancak enzim aktivasyonunu ve gen transkripsiyonu düzenlenmesi için gerekli olduğu, kırmızı led'lerin metabolizma ve protein sentezini düzenlediği ve sonuçta hücre çoğalmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda da kırmızı ışığın hücre çoğalmasında etkili olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmada; farklı voltaj seçeneklerini göz önünde bulundurularak 3 çipli led ışıklar için 12 volt ve 10 volt ile aydınlatma denemesi yaptığımızda, fotoinhibisyon gözlemlendi ve 8 volt'un (led başına yaklaşık 2.6 V düşerek) kültür gelişimi için uygun olduğu tespit edildi. Klorofil-a uyarılmasının ışık renklerine bağlı değişimini gözlemleyerek sonucunda: kontrol grubuna oranla 1 ml E vitaminin kırmızı ışık renginde maksimum değer aldığı, mavi ve beyaz ışık renklerinde ise mavi 1 ml ve 3 ml vitamin ilave edilen grup hariç; kontrol grubuna oranla E vitamini ilave edilen tüm gruplarda daha fazla kl-a uyarımı gözlenmişken bu iki ışık rengine bağlı maksimum uyarılmanın gözlemlendiği grup 2 ml E vitamini ilave edilen gruplar olmuştur. Bu bilgilere dayanarak; E vitamini ilavesinin kl-a uyarılmasında pozitif bir artışa sebep olduğu ve ışık renklerine bağlı olarak oranlarının değiştiği gözlenmiştir. Kontrol gruplarına göre renkler mukayese edildiğinde kırmızı

ışıktaki kl-a uyarılması beyaz ışıktaki uyarımdan daha fazla olup mavi ışıktaki bu oranın düştüğü görülmüştür.

İkinci deney olarak yapılan selenyum içeren kültür ortamında ise; ışık grupları arasında klorofil a için karşılaştırma yapıldığında, 15 mg/L Na_2SeO_3 ilavesinde tüm gruplarda kontrol grubuna oranla daha fazla miktarda kl-a değeri tespit edilmiştir. Kırmızı ışık altında bu değerin diğer ışık renklerine oranla daha da arttığı gözlemlenmiştir. Gün ışığı ışık renginde Na_2SeO_3 ilavesinde kontrol grubuna göre kl-a değeri artmışken mavi renk ile aydınlatmada bu oran düşmüştür. Işık renklerinin kl-a miktarındaki değişimi etkilediği ve aynı zamanda Na_2SeO_3 ' in kl-a miktarını değiştirdiği açıktır ve 15 mg/L Na_2SeO_3 ilavesinin klorofil a için diğer dozlara göre uyarılmasının daha iyi olduğu görülmüştür.

Hücrelerin gelişim gösterdiği ışığın rengi fikosiyanın/klorofil-a oranının tespitinin yapılmasında önemlidir. Govindjee (1966), bir siyanobakter olarak bilinen *Anacystis nidulans*'ın farklı ışık yoğunluğu, farklı ışık renklerinde pigment miktarı ve pigmentler arasındaki enerji transferi üzerine yaptıkları çalışmada alg'in yetiştiği ışık yoğunluğunun, fikosiyaninden klorofil-a'ya enerji aktarımında önemli olduğunu ortaya koymuştur. Denemelerinde yoğun beyaz ışıktaki yetiştirilen kültürlerde fikosiyanın/(Kla) oranı 0,74 olurken düşük yoğunluktaki beyaz ışıktaki fikosiyanın/(Kl-a) oranı 1,05 olmuştur. (Kurhan, 2012)

Her iki deney içinde değerlendirilen klorofil a analizi sonucunun önceki çalışmalarda olduğu gibi ışık rengine bağlı değiştiği görülmüştür.

4.4. Selenyum Metal Birikimi (ug/L)

Pronina vd., (2001); *Spirulina platensis* kültür ortamını pH: 9 ve 35 °C'ye ayarlayarak, zarrouk besin ortamına 10, 20, 30, 50, 150 ve 170 mg/L konsantrasyonlarda Na_2SeO_3 ilave etmiş ve sonuçta: 30 mg/L Na_2SeO_3 ilavesinde, büyüme hızı ve büyük ölçüde optik yoğunlukta düşüş gözlerken; 20 mg/L Na_2SeO_3 ilavesinde gelişimi inhibe etmeden hücre gelişimi görmüşlerdir. Pelah ve Cohen (2005), yaptıkları çalışmalarında; *Chlorella zofingiensis*'in 100 mg/L'lik bir konsantrasyona kadar Na_2SeO_3 'e tolerans gösterdiğini belirtmiş ve temel problemin, selenyumun toksik konsantrasyonun

organizmaya göre farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Benzer nitelikte ışık renkleri değişmesine karşın üç farklı ışık için selenyum birikiminin tespitinde; kırmızı ve mavi ışık altında 15 mg/L Na_2SeO_3 'e tabi tutulan ortamda diğer gruplara oranla daha fazla selenyum birikimi saptanmış 7. gün sonunda maksimum değere ulaşmıştır. Diğer gruplarda ise 13. gün sonuna kadar izlendiğinde inişli çıkışlı bir selenyum birikim tespit edilmiştir. Beyaz ışık kontrol grubunda ise 11. gün sonuna kadar selenyum artışı olurken 13. gün düşüş değerine rastlanılmıştır. 15 mg/L Na_2SeO_3 ilave edilen kırmızı led ışıktaki diğer doz uygulama gruplarına göre daha fazla selenyum birikimi tespit edilmiştir.

Chen vd., (2005)'de; *Spirulina platensis*'i yüksek dozda selenyumla zenginleştirmek için, bir mixotrophic kültür oluşturmuşlardır. Oluşturulan kültürü mikсотrofik olması amacıyla asetat takviyesi ile detaylandırmışlardır. *S. platensis*'in büyüme fazı için, selenyum (Se) kaynağı, azar azar ilave ile yüksek Se konsantrasyonunun hücre büyümesini inhibe etkisini önleyerek; bir karbon kaynağı olan asetat takviyesi ile *Spirulina*'nın mikсотrofik kültürünü 30 °C'de 4000 lüks ışık altında, 9 pH'da 14:10 (aydınlık:karanlık) periyotta, azar azar selenyum ilavesiyle yapılan çalışmada; dozun 450 mg/L'ye ulaştığı selenyum konsantrasyonu altında, biyomas'ının en yüksek seviyeye ulaştığını ve fotosentetik pigment veriminde önemli bir artış gözlemlemişlerdir. 600 mg/L selenyum ilavesinde ise alg gelişimini inhibe olduğunu kaydetmişlerdir. Se'un doğrudan ilavesi ile kültür, ilk yüksek Se konsantrasyonuna ($\geq 200 \text{ mg L}^{-1}$) biyomas'ında ve alg hücrelerinin büyüme hızında ciddi bir azalmaya neden olduğunu gözlemişlerdir. Bu çalışma sonucunda ise; *S. platensis*'in kültürüne Se kaynağının (Na_2SeO_3) adım adım eklenmesi ile mikсотrofik kültür uygulaması, selenyumca zengin biyolojik bileşiklerin üretimi için daha etkili ve ekonomik bir yol sunduğunu belirtmişlerdir.

Doucha vd., (2009), Selenyum'un kültür ortamına adım adım ilave edilmesiyle, ortamdaki toksisiteyi engelleyerek alg üretiminin daha ekonomik ve etkili bir yol olduğunu bildirmiştir.

Bizim çalışmamızda ise doğrudan uygulanan Na_2SeO_3 'ün (15, 30, 45 mg/L) 15 mg/L dozunda ve kırmızı led ışık aydınlatmasında selenyum metal birikiminin daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

4.5. E Vitamini (ug/mL)

Farklı renklerle aydınlatılan ve farklı dozlarda E vitamini ilave edilen kültürlerdeki *Spirulina platensis*'in E vitamini içerikleri 1'er gün ara ile takip edildi. Gün ışığında ve 3 ml E vitamini ilave edilen kültürde 7. günün sonunda ani bir artış görülürken, 9. günde ise düşüş görüldü, bu da ışık rengi ve uygulanan E vitamini dozunun *S. platensis*'in E vitamini sentezini arttırdığını göstermektedir.

E vitaminine dair benzer bir çalışmaya rastlanılmamakla birlikte; gelişim parametreleri; yaş (g/L) ve kuru ağırlık (g/L), optik yoğunluğu, klorofil-a miktarı (µg/ml), Se metali birikimleri (ug/L) ile ilgili sonuçlar diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak;

Kültür ortamlarına ilave edilebilecek selenyum veya E vitamini değişimine bağlı olarak alglerin hücresel gelişimi, klorofil a miktarındaki değişimleri ve selenyum ile E vitamini miktar farklılığının türler arasında farklılık göstereceği aşikardır. Bu sebeple özellikle kültür çalışmalarında ticari önemi olan *Spirulina platensis*'in aydınlatma rengine ve voltajına bağlı olarak; kuru-yaş madde, optik yoğunluk, klorofil a, farklı doz uygulamalarına bağlı selenyum birikimi ve yine ortama ilave edilen E vitamininin; kültür ortamındaki E vitamini miktarındaki değişimlerinin belirlendiği bu çalışmanın, bundan sonra *Spirulina platensis* ile yapılacak çalışmalara ışık tutacağı ümit edilmektedir. Aynı zamanda besiyerine belirli dozlarda E vitamini ilavesi ve farklı led ışık renkleriyle aydınlatılan kültürlerin ve diğer bir deney olarakta besiyerine ilave edilen selenyum dozlarının, farklı ışık renklerinde aydınlatılan kültürlerdeki metal birikim tespitine dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla E vitaminin önemi düşünüldüğünde bundan sonraki çalışmalarda denenebilmesi önerilmektedir. *Spirulina platensis*'in E vitamini açısından en zengin duruma geldiği şartlar belirlendikten sonra, besin zincirinin ilk halkasını oluşturan ve ekonomik önemi olan bu canlının kullanım amacına bağlı olarak değerlendirilmesi açısından önemlidir. Bununla beraber bütün gruplar için gelişimine baktığımız *Spirulina platensis*'in fizyolojisi, biyokimyası, birikim mekanizmasının aydınlatılması çerçevesinde daha ayrıntılı çalışmaların yapılması önerilmektedir.

5. KAYNAKLAR

- ATAY, D., 1984.** Bitkisel Su Ürünleri ve Üretim Tekniği, A.Ü. Ziraat Fak. Yayınları: 905, Ders Kitabı: 253, s. 158-166, Ankara.
- BARCELOUX D., G., 1999.** Selenium. J Toxicol Clin Toxicol. 1999;37(2):145-72.
- BOMBART, P., BROUERS, M., DUJARDİN, E., SIRONVAL, C., 1993.** *Spirulina* Cultures in Temperate Climates. In: *Spirulina* Algae of Life, F. Doumenge, H. Durand-Chastel and A. Toulemont (eds), pp. 97–102.
- BOWIE, G.L., SANDERS, J.G., RIEDEL, G.F., GILMOUR, C.C., BREITBURG, D.L., CUTTER, G.A., PORELLA, D.B., 1996.** Assessing Selenium Cycling and Accumulation in Aquatic Ecosystems. Water Air Soil Pollut. 90, 93–104.
- CHASTEEN TG, BENTLEY R., 2003.** Biomethylation of Selenium and Tellurium: Microorganisms and Plants. Chem Rev 2003;103:1–26.
- CHEN T. F., CHUI X. F., YANG F., ZHENG W. J., BAI Y., 2005,** Stepwise addition of selenium for the Production of High Selenium-Enriched *Spirulina platensis* and the Effects on the Photosynthetic Pigments and Proteins. Food Fermentation Industries 2005;31:48–51.
- CHEN T., ZIENG W., YANG F., BAI Y., WONG Y., S. 2006.** Mixotrophic Culture of High Selenium-Enriched *Spirulina platensis* on Acetate and The Enhanced Production of Photosynthetic Pigments.
- CHEN T., WONG Y. S., ZHENG W., 2006.** Purification and Characterization of Selenium-Containing Phycocyanin From Selenium-Enriched *Spirulina platensis*. Elsevier Science, Volume 67, Issue 22, November 2006, Pages 2424-2430.
- CHEN Y., C., LEE M. C., 2012.** Double-Power Double-Heterostructure Light-Emitting Diodes In Microalgae, *Spirulina platensis* and *Nannochloropsis oculata* Cultures. Journal of Marine Science and Technology, Vol. 20, No. 2, 2012, pp. 233-236.

- CİFFELLİ, O., 1983.** *Spirulina*; the edible organism. Microbiol. Rev. 47,551-578.
- CİRİK, S., 1989.** Zengin Bir Bitkisel Gıda *Spirulina*. Tübitak Bilim ve Teknik dergisi, Sayı: Nisan, 1989, pp:19-20.
- CİRİK, S., GÖKPINAR, Ş., 1993.** Plankton Bilgisi ve Kültürü, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No: 47, İzmir.
- CİRİK, S., 2005.** Mikroalgal Bioteknoloji. Aquaculture Dergisi, Yıl:1, Sayı:3, s. 26-27, İzmir.
- CLARK L., C., CANTOR K., P., ALLAWAY W.H., 1991.** Selenium in Forage Crops and Cancer Mortality in US Countries, Arch. Environ. Health 46, 1991 37–42.
- DALAY M. C., İMAMOĞLU E., ÖNCEL S., 2008.** Mikroalgal Biyokütle Üretimi için Düşük Maliyetli Fotobiyoreaktör Tasarımı. TÜBİTAK 2504. İzmir.
- DOUCHA J., LİVANSKİ K. 2009.** Outdoor Open Thin-Layer Microalgal Photobioreactor: Potential Productivity. J Appl Phycol 21:111–117.
- DUFFIELD-LILLICO, A. J., REİD, M. E., TURNBULL, B. W., COMBS, G. F., JR, SLATE, E. H., FİSCHBACH, L. A., 2002.** Baseline Characteristics And The Effect Of Selenium Supplementation On Cancer Incidence İn A Randomized Clinical Trial A Summary Report Of The Nutritional Prevention Of Cancer Trial. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention, 11, 630–639.
- ERDOĞAN, M., 2014.** Extra E Vitamini İlave Edilen Yemlerin Buz Prensese Balığının (*Pseudotropheus Socolofi* Johnson, 1974) Büyüme ve Üreme Performansı Üzerine Etkileri, Muğla Sıtkı Kocaman Üniversitesi, *Yüksek Lisans Tezi*, Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
- FOX, R. D., 1996.** Pub. By Editions Edisud, La Calade, R.N.7, 13090 Aixen Province, 232p, France.
- FOX, R.D., 1999.** *Spirulina* Production & Potential. Sarl Edisud, La Calade, Rn 7, 3120, pp:232, France.

- GOVINDJEE, A., K., G., A., 1966.** Transfer of the Excitation Energy in *Anacystis nidulans* Grown to Obtain Different Pigment Ratios. Biophysical Journal, Vol. 6; pp. 611-619.
- GÖKPINAR Ş., KORAY T., AKÇİÇEK E., GÖKSAN T., DURMAZ Y., 2006.** Algal Antioksidanlar. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 2006 E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences 2006 Cilt/Volume 23, Ek/Suppl. (1/1): 85-89.
- GÖKPINAR Ş., IŞIK O., GÖKSAN T., DURMAZ Y., USLU L., AK B., ÖNALAN K., S., AKDOĞAN P., 2013.** Algal Biyoteknoloji Çalışmaları. Yunus Araştırma Bülteni 2013 (4): 21-26.
- GÜRBÜZ F., 1997.** *Spirulina maxima* Geitler, 1932'nin Laboratuvar Şartlarında Üretimi ve Fizyolojisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- HALVER, J., E., 2002.** The Vitamins. Fish Nutrition, Third Edition, Academic Press, 839. 61-142, pp., London.
- HUANG Z., GUO B. J., WONG R. N. S., JIANG Y., 2005.** Characterization And Antioxidant Activity of Selenium-Containing Phycocyanin Isolated From *Spirulina platensis*. Elsevier Science, Volume 100, Issue 3, 2007, Pages 1137-1143.
- KASAL L. G., 2006.** Endüstriyel Ölçekli *Spirulina* Üretimi. *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- KATSANİDİS E., ADDİS P., B. 1999.** Novel HPLC Analysis of Tocopherols, Tocotrienols, and Cholesterol in Tissue. Free Radic Biol Med. 1999, Dec;27(11-12):1137-40.
- KENDİRLİOĞLU G., 2012.** *Chlorella vulgaris*'in Hücre Sayısı, Klorofil Miktarı ve Büyüme Hızına Aydınlanma Süresinin Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- KÖPRÜCÜ K., BAĞCI E., 2012.** Balıkların Üreme Performansına Beslemenin Etkileri. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 5 (1): 83-86, 2012, www.nobel.gen.tr, (01.04.2014).

- KURHAN Ş., 2012.** Fulvik Ve Humik Asidin *Chlorella vulgaris* ve *Spirulina platensis* Gelişimine Etkisinin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- LEE S., H., LEE J., H., KİM Y., LEE S., Y. 2015.** The Production of High Purity Phycocyanin by *Spirulina platensis* Using Light-Emitting Diodes Based Two-Stage Cultivation. *Appl Biochem Biotechnol*.
- Li Z. Y., Guo S. Y., Li L., 2003.** Bioeffects of Selenite on The Growth of *Spirulina platensis* and Its Biotransformation. 2003 Sep;89(2):171-6.
- MATTHİJS C. P. H., BALKE H., HES U. M. V., KROON B. M. A., MUR L. R., BİNOT R. A., 1995.** Application of Light-Emitting Diodes in Bioreactors: Flashing Light Effects and Energy Economy in Algal Culture (*Chlorella pyrenoidosa*), *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 50, Pp. 98-107.
- MİCHEL K., ADOLF E. 2004.** Light-Emitting Diodes for the Illumination of Algae in Ecotoxicity Testing. Published online in Wiley InterScience www.interscience.wiley.com, (01.04.2014).
- MOSULİSHVİLİ L. M., KİRKEALİ E. I., BELOKOBYSKY A. I., KHİZANİSHVİLİ A. I., FRONTASYEVA M. V., PAVLOV S. S., GUNDORİNA S. F., 2002.** Experimental substantiation of the possibility of developing selenium- and iodine-containing pharmaceuticals based on blue-green algae *Spirulina platensis*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 30 (2002) 87–97.
- OGAWA, T., AİBA, S., 1977.** Assessment of Growth Yield of a Blue-Green Alga: *Spirulina platensis*, in Axenic and Continuous Culture. *J. Gen. Microbiol.* 1977, 102: 179-182.
- OĞUZ H., 2008.** Çukurova İklim Koşullarının *Spirulina platensis* (Cyanophyta)’deki Fikosiyanın Miktarına Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- ORTEGA, M., 1972.** Study of the Edible Algae of the Velly of Mexico, *Botanica Marina* Vol. XV, p. 162-166.

- ORUÇ A. Ç., 2011.** Farklı Renkteki Led Işık Kaynaklarının *Chlorella sp.*'nin Büyümesi ve Yağ Asitleri Kompozisyonuna Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- PARSON, T. R., 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*, Vol:21, No:3, p.115-163.
- PELAH D., COHEN E. 2005.** Cellular response of *Chlorella zofingiensis* to Exogenous Selenium. *Plant Growth Regul* 45:225–232.
- PRONINA N. A., KOVSHOVA YU. I., POPOVA V. V., LAPIN A. B., ALEKSEEVA S. G., BAUM R. F., MISHINA I. M., TSOGLIN L. N., 2001.** The Effect of Selenite Ions on Growth and Selenium Accumulation in *Spirulina platensis*. *Russian Journal of Plant Physiology*, Vol. 49, No. 2, 2002, pp. 235–241. Translated from *Fiziologiya Rastenii*, Vol. 49, No. 2, 2002, pp. 264–271.
- PRICE, N.M., THOMPSON, P.A., HARRISON, P.J., 1987.** Selenium: An Essential Element for Growth of The Coastal Marine Diatom *Thalassiosira pseudonana*. *J. Phycol.* 23, 1–9.
- RICHMOND, A., LICHTENBERG, E., STAHL, B., VONSHAK, A., 1990.** Quantitative assessment of the major limitations on productivity of *Spirulina platensis* in open raceways, *Journal of Applied Phycology* 2, 195–206.
- RODİNOVA H., KROUPOVA V., TRAVNICEK J., STANKOVA M., PISEK L., 2008.** Dynamics of IgG in The Blood Serum of Sheep with Different Selenium İntake. *Vet Med* 53:260–265.
- SKRIVAN M., SIMANE J., DLOUHA G., DOUCHA J., 2006.** Effect Of Dietary Sodium Selenite, Se-Enriched Yeast And Se-Enriched *Chlorella* On Egg Se Concentration, Physical Parameters Of Eggs And Laying Hen Production. *Czech J Anim Sci* 51:163–16.

- TOMASELLI, L., GIOVANNETTI, L., SACCHI, A. AND BOCCI, F. 1988.** Effects of temperature on growth and biochemical composition in *Spirulina platensis* strain M2. Elsevier, Journal Article, 2013, pages: 305-314.
- TORZILLO, G., GOKSAN, T., FARALONI, C., KOPECKY, J. AND MASOJÍDEK, J., 2003.** Interplay Between Photochemical Activities and Pigment Composition In An Outdoor Culture of *Haematococcus pluvialis* During The Shift From The Green To Red Stage, Journal of Applied Phycology 15, 127-136.
- TORZILLO., 1991.** Temperature as an Important. Factor Affecting Productivity and Night Biomass Loss in *Spirulina platensis*. Grown Outdoors in Tubular Photobioreactors, Bioresource Technology. Elsevier Sciences Publishers Ltd., England. Volume 38, Issues 2–3, 1991, Pages 95-100.
- URL-1** https://tr.wikipedia.org/wiki/E_vitamini. 01.02.2016
- VITOVA M., BISOVA K., DOUCHA J., ZACHLEDER V., 2015.** Beneficial or Toxic Effects of Selenium on Green Algae and Their Application as Nutrient Supplements or Bio-remediators. Springer International Publishing Switzerland 2015, Algal Biorefineries pp 315-338.
- WANG C. Y., FU C. C., LIU Y. C., 2007.** Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. Biochemical Engineering Journal 37 2007, 21–25.
- YILMAZ K. H., DURU D. M., 2011.** Sianobakteri *Spirulina platensis*'in Besin Kimyası ve Mikrobiyolojisi. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 4(1): 31-43, 2011.
- YÜCE D., PERDAHCI C., ÜNSALAN H., 2016.** Aydınlatmada Geleneksel Işık Kaynaklarından Led'e Kadar Uzanan Tarihçe, Elektrik Dergisi Enerji, Elektrik, Aydınlatma, Elektronik ve Otomasyon Mühendisliği Dergisi, 127, 2016.
- ZINICOVSCAIA I., CEPOI L., CHIRIAC T., CULICOV O. A., FRONTASYEVA M., PAVLOV S., KIRKESALI E., AKSHINTSEV A., RODLOVSKAYA E., 2015.** *Spirulina platensis* as Biosorbent of Chromium and Nickel from Industrial Effluents. Desalination and Water Treatment 57, 2016, 11103–11110.

ÖZGEÇMİŞ

18.04.1989 yılında Ankara’da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Ankara’da tamamladım. 2008 yılında Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandım. 2012 yılında biyoloji bölümünden mezun oldum. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Genel Biyoloji programında yüksek lisans’a başladım.

