

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

PORPHYRIDIMUM CRUENTUM KÜLTÜRLERİNDE
BÜYÜME VE BİYOKİMYASAL KOMPOZİSYONDA
MEYDANA GELEN DEĞİŞİMLER

Bircan ÖZBAŞ

Danışman:
Doç. Dr. Tolga GÖKSAN

Temmuz, 2008

Çanakkale

***PORPHYRIDIUM CRUENTUM* KÜLTÜRLERİNDE
BÜYÜME VE BİYOKİMYASAL
KOMPOZİSYONDA MEYDANA GELEN
DEĞİŞİMLER**

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi

Su Ürünleri Anabilim Dalı

Bircan ÖZBAŞ

Danışman:

Doç. Dr. Tolga GÖKSAN

Temmuz, 2008

Çanakkale

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

BİRCAN ÖZBAŞ tarafından **DOÇ.DR. TOLGA GÖKSAN** yönetiminde hazırlanan “**PORPHYRIDIMUM CRUENTUM KÜLTÜRLERİNDE BÜYÜME VE BİYOKİMYASAL KOMPOZİSYONDA MEYDANA GELEN DEĞİŞİMLER**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Tolga GÖKSAN



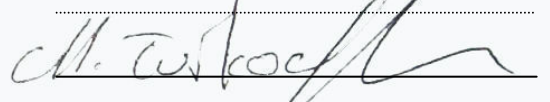
Yönetici

Prof. Dr. Şevket GÖKPINAR



Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Muhammet Türkoğlu

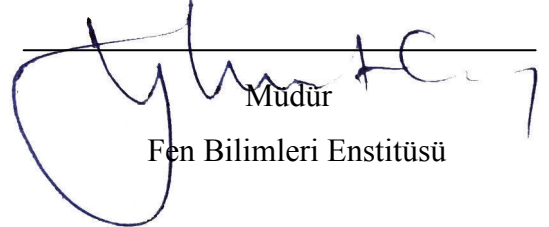


Jüri Üyesi

Sıra No:.....

Tez Savunma Tarihi:...../...../.....

Prof. Dr. Mehmet Emin ÖZEL



Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalıőmam boyunca bana yol gösteren, maddi manevi desteğini esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Tolga GÖKSAN'a, tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Bircan ÖZBAŞ

SİMGELER ve KISALTMALAR

μ	Mikro
cm	Santimetre
m	Metre
sn	Saniye
dk	Dakika
mL	Mililitre
L	Litre
Abs	Absorbans
mg	Miligram
g	Gram
nm	Nanometre
PE	Polietilen
Rpm	Dakikada devir hızı
°C	Santigrat derece
W	Watt

PORPHYRIDIVM CRVENTVM KÜLTÜRLERİNDE BÜYÜME VE BİYOKİMYASAL KOMPOZİSYONDA MEYDANA GELEN DEĞİŞİMLER

ÖZET

Bu çalışmada, *Porphyridium cruentum*'un küçük hacimlerde (1 L) farklı ışık (50, 100 ve 150 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$) ve sıcaklık değerlerinde (18, 22 ve 26 °C), farklı ışık yolu uzunluklarında (17,5, 23,0 ve 27,5 cm), polietilen naylon torbalarda (20 L) ve büyük ölçekli havuzlarda (1000 L) büyüme ve polisakkarit biriktirme özellikleri çalışıldı. Yapılan denemeler sonucunda farklı sıcaklık ve ışık şiddetleri altında en yüksek büyüme 22 °C'de 150 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde 16. günde ulaşıldı. Buna göre en yüksek hücre sayısı 23,9 x 10⁶ hücre mL⁻¹, kuru ağırlık değeri ise 1,75 g L⁻¹ olarak bulundu. Denenen farklı ışık yolu uzunluklarında ise 17,5 cm'de en yüksek hücre sayısı elde edildi (4,2 x 10⁶ hücre mL⁻¹). Hücrelerde en yüksek polisakkarit içeriği ise 18 °C'de 50 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde 12. günde kuru ağırlığın % 45'i oranında bulundu. Polietilen torbalarda gerçekleştirilen denemelerde, 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde 15. günde 6,3 x 10⁶ hücre mL⁻¹ sayıya ulaşıldı. Havuz denemelerinde ise ilk 6 gün hücre sayısında artış yaşandı (0,9 x 10⁶ hücre mL⁻¹). Takip eden günlerde ise hücre sayısı düştü.

Sonuç olarak, *Porphyridium* hücrelerinin gerek büyümesi, gerekse polisakkarit üretme hızının genel olarak artan sıcaklık ve ışık şiddeti ile arttığı görüldü. Ayrıca, kuvvetli güneş ışığının bulunduğu dış ortamda yapılacak çalışmalarda, yüksek hücre yoğunluğu ile başlamanın önemli olduğu görüldü.

Anahtar sözcükler: *Porphyridium cruentum*, polisakkarit, büyüme, polietilen torba, havuz

THE CHANGES IN GROWTH AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF *PORPHYRIDIUM CRUENTUM* CULTURES

ABSTRACT

In this study, the growth and accumulation of polysaccharides in *Porphyridium cruentum* at different light (50, 100 and 150 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and temperatures (18, 22 and 26 °C) in small volume cultures (1 L), in different light path lengths (17,5, 23,0 and 27,5 cm), in polyethylene bags (20 L) and in open ponds in large volume cultures (1000 L) were studied. The result of the studies carried out showed that the best growth was achieved at 22 °C and 150 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ on the 16th day. Accordingly, the highest cell count was found to be $23,9 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ and the dry weight was found to be $1,75 \text{ g L}^{-1}$. As for the different light path lengths, the highest cell count was found in 17,5 cm ($4,2 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$). The highest polysaccharide content in the cells was found on the 12th day at 18 °C and 50 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ to be 45 % of the dry weight. In the trials carried out in polyethylene bags, the cell count was $6,3 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ on the 15th day at 100 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As for pond cultures, the cells were increased during the first 6 days ($0,9 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$), and the cells started to decrease in the following days.

As a result, it was seen that the both of the growth and the rate of polysaccharide production were in general increased by the increasing temperature and light. In addition, it was seen that starting with higher cell concentrations in the experiments to be done outdoors under strong sun light was important.

Keywords: *Porphyridium cruentum*, polysaccharide, growth, polyethylene bags, pond

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
BÖLÜM 1 – GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2 – KAYNAK ÖZETLER.....	3
2.1. Türün Genel Özellikleri.....	3
2.2. Kullanım Alanları.....	4
2.3. Üretim Çalışmaları.....	5
BÖLÜM 3 - MATERYAL VE METOD.....	7
3.1. Organizma ve Kültür Koşulları.....	7
3.2. Deneme Grupları.....	8
3.3. Analitik Ölçümler.....	10
BÖLÜM 4- BULGULAR.....	14
4.1. Küçük ölçekli çalışmalar.....	14
4.1.1 Işık ve sıcaklığın etkisi.....	14
4.1.2. Işık yolu uzunluğunun etkisi.....	26
4.2. Büyük ölçekli çalışmalar.....	29
4.2.1. Polietilen torbalarda üretim.....	29
4.2.2. Havuzda üretim.....	32
BÖLÜM 5 – SONUÇ VE TARTIŞMA.....	35
KAYNAKLAR.....	40
Tablolar.....	I
Şekiller.....	II
Yaşam Öyküsü.....	V

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Yirminci yüzyılın başlarında dünya nüfusunun hızla artması sonucu doğal kaynaklar yetersiz kalmaya başlamıştır. Bu durum karşısında araştırmacılar artan protein açığını kapatabilmek için besin üretimini artırıcı önlemlerin yanı sıra alternatif besin kaynakları arayışı içine girmişlerdir. Mikroalgler, gerek alternatif protein kaynağı olmaları gerekse hücre içinde biriktirmiş oldukları değerli metabolitler bakımından son zamanda üzerinde en fazla çalışılan organizmalardan biri haline gelmiştir.

Mikroalg üretiminin ticari anlamda büyük ölçeklerde üretimi, ilk olarak 1960'lı yıllarda *Chlorella* (Chlorophyceae) üretimi başlamış olup, özellikle 1980'den sonra mavi-yeşil alglerden *Spirulina* sp.'nin üretimi ile hız kazanmıştır. Mikroalgal biyoteknoloji konusunda ülkemizde ilk gerçekleştirilen çalışmalardan biri, EPA (Eicosapentaenoic Asit) bakımından zengin bir pennat diyatom türü *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin üzerine gerçekleştirilen çalışmalardır (Gökpınar, 1980, 1982). İlerleyen yıllarda, *Spirulina* türünün besin madde içeriğine dikkat çekilmiş (Cirik, 1989) ve günümüzde bu türün büyük ölçeklerde üretimi ülkemizde devam etmektedir.

Mikroalglerin hücre içinde biriktirdikleri ekonomik anlamda değerli metabolitler genel olarak protein, pigmentler (Borowitzka, 1988), polisakkaritler (Gudin, 1988), antibiyotik ve vitaminler (Cohen, 1986), hidrokarbonlar (Bachofen, 1982) ve yağ asitleri (Cohen, 1986) şeklinde sıralanabilir. Dolayısıyla, bu fotosentetik canlılar insanlar için besin desteği (Henrickson, 1989), akuakültür ve hayvan besleme (Becker, 1986), enerji üretimi (Ginzburg, 1993), tarlalarda azotlu gübre olarak kullanım (Watanabe ve diğ., 1987) ve atık su arıtımı (Henze ve diğ., 2002) gibi çok farklı alanlarda kullanılabilir.

Mikroalgal biyoteknoloji kapsamında en önemli türlerden biri de *Porphyridium cruentum* (Rhodophyceae) olup, bu tür özellikle polisakkaritler (Ramus 1972) başta

olmak üzere yağ asitlerinden Arachidonik Asit (ARA, 20:4w6), Gammalinolenic Asit (GLA, 18:3w6) ve Eicosapentaenoic Asit (EPA, 20:5w3) bakımından zengin bir türdür (Vonshak, 1988). Polisakkaritler, başta kozmetik ve gıda olmak üzere jelleştirici ajan, stabilizör, yağların iyileştirilmesi gibi pek çok alanda kullanım alanına sahip ticari olarak önemli algal metabolitlerden biridir (Arad, 1999). ARA, EPA ve GLA ise insan ve hayvanlarda bir besin desteği olarak dışarıdan alınması gerekli önemli yağ asitleridir.

Porphyridium cruentum'un kültürü büyük ölçeklerde farklı üretim sistemlerinde gerçekleştirilebilmektedir. Kontrollü koşullar altında tüp fotobiyoreaktörlerde (Gudin ve Chaumont, 1991, Reboloso Fuentes ve diğ., 1999), polietilen torbalarda (Cohen ve Arad, 1989), dış ortamda havuzlarda (Cohen ve diğ., 1988) ve cam panel fotobiyoreaktörlerde (Singh ve diğ., 2000) gerçekleştirilen çalışmalar örnek olarak verilebilir.

Bu çalışmada, *Porphyridium cruentum*'un farklı sıcaklık ve ışık şiddetlerinde büyüme ve polisakkarit biriktirme özelliklerinin tespiti ile büyük hacimlerde torba ve havuz kültürlerindeki büyüme özelliklerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Türün Taksonomisi ve Genel Özellikleri

Kırmızı alglerden *Porphyridium cruentum* (Rhodophyta) ilk defa Naegeli tarafından 1849'da tanımlanmıştır. Fakat bu türün taksonomik durumu sürekli tartışmalara konu olmuştur. En çok karşılaşılan türlerden olan *Porphyridium purpureum* (Bory) Drew et Ross ile *P. cruentum* (S.F. Gray) Naegeli sinonimdir (Vonshak, 1988). *Porphyridium cruentum*'un günümüzde sistematikteki yeri aşağıdaki gibidir:

- Şube : Rhodophyta
- Sınıf : Rhodophyceae
- Takım : Porphyridiales
- Aile : Porphyridiaceae
- Cins : *Porphyridium*
- Tür : *Porphyridium cruentum*



Şekil 1. *Porphyridium cruentum* hücresi (Çubuk 10 µm'yi temsil eder)

Porphyridium sp. tatlı su, deniz suyu veya nemli topraklarda bulunabilir. Tek hücre veya kümeleşmiş halde düzensiz koloniler şeklinde görülebilir (Vonshak, 1988). Dairesel şekilli olan *Porphyridium* hücreleri 4-9 µm çapında olup, hücre duvarına sahip değildir (Şekil 1). Hücreler, hücre etrafında yüksek miktarda sülfatlı yapıda polisakkarit oluşturma özelliğindedir (Arad ve diğ., 1985; Singh ve diğ., 2000). Bu tabaka, büyümenin logaritmik evresinde en ince halinde iken durgunluk fazında en kalın haline gelir. Büyüme ortamına geçtiğinde çözünen yapıda olan bu polisakkarit ürün hücre yüzeyinde sürekli olarak yenilenir (Ramus, 1972, 1986; Arad, 1988; Friedman ve diğ., 1991). Hücre membranından kültür ortamına geçen bu sülfatlı yapıdaki polisakkarit kültür ortamının viskozitesinin artmasına neden olur (Ramus, 1986). Hücreyi kapsül şeklinde çeviren polisakkarit yapının temel görevi hücrenin su kaybetmesini önlemektir (Ramus, 1981).

2.2. Kullanım Alanları

Polisakkaritler genel olarak kozmetik endüstrisinde, uçuk ilaçlarında ve besin desteği olarak sağlık sektöründe kullanılmaktadır. Ayrıca, ziraat alanında büyüme destekleyici şeklinde de kullanımı bulunmaktadır (Sivan ve Arad, 1998). Özellikle *Porphyridium*'dan elde edilen polisakkarit, son yıllarda dünyaca ünlü kozmetik markalarının ürünlerinin içeriğinde yer almaya başlamıştır. Son zamanlardaki yapılan çalışmalarda, *Porphyridium*'dan elde edilen polisakkaritlerin antioksidan ve antiviral aktivitelere sahip olduğu da gösterilmiştir (Xue ve diğ., 2000; Huheihel ve diğ., 2001, 2002; Talyshinsky ve diğ. 2002; Zaho ve diğ., 2004, Huang ve diğ., 2005). Ayrıca, *Porphyridium*'dan elde edilen polisakkarit'in ekstrem koşullarda dahi özelliğini kaybetmeyen biyolojik bir yağlayıcı (lubricant) olarak işlev gördüğü gösterilmiştir (Arad ve diğ., 2006).

Porphyridium'da önemli miktarlarda biriktirilen EPA (Eicosapentaenoik Asit, 20:5w3), ARA (Arachidonik Asit, 20:4w6) ve GLA (Gammalinolenic Asit, 18:3w6) gibi çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) hücresel membranlara kazandırdıkları esneklik, akışkanlık ve seçici geçirgenlik gibi özellikler nedeniyle insan ve hayvan sağlığı için esansiyel maddelerdir. Bu nedenle uzun zincirli doymamış yağ asitleri

bebek mamalarında, yetişkinler için besin desteklerinde, hayvan yemlerinde ve farmasötik uygulamalarda kullanılabilir. Özellikle, beyin zarının yapısında bulunan fosfolipitlerdeki temel PUFA'lar olan ARA ve Decosaheksaenoic Asit (DHA) bebeklerin gelişiminde çok önemlidir (Koletzko ve Braun, 1991). Bu nedenle, bebek mamalarının ARA ve DHA yağ asitleri ile desteklenmesi önerilmektedir (Makrides ve diğ., 1995).

2.3. Üretim Çalışmaları

Golueke ve Oswald (1962), yaptıkları çalışmada *Porphyridium cruentum*'un büyümesinde farklı sıcaklıkların (13, 21, 26, 31 ve 35 °C) etkisini araştırarak optimum büyüme sıcaklığının 21-26 °C arasında olduğunu bulmuşlardır. Büyümenin 13 °C'nin altında çok düşük olduğu, 31 °C'nin üstünde ise tamamen engellendiği tespit edilmiştir.

Lee ve Bazin (1991)'in farklı sıcaklık (19, 23, 28 ve 31 °C), pH değeri ve tuzluluk değerlerinin büyüme üzerindeki etkilerini araştırdığı denemelerde, maksimum büyüme hızının 23 °C sıcaklıkta pH 8 değerinde ve 0,42 M tuzluluk değerinde elde edildiği görüldü. Bu koşullar altında büyütülen *Porphyridium* kültürünün spesifik büyüme hızı 0,065 saat⁻¹ (ikilenme zamanı 10,7 saat) olarak bulundu.

You ve Barnett (2004)'in farklı ışık yoğunluklarının (39, 48, 60, 70, 90 µmol foton m⁻² sn⁻¹) spesifik büyüme hızı ve hücre dışı polisakkarit birikimi üzerine etkilerini inceledikleri ve BIOIII reaktörün kullanıldığı araştırmada, 20 günün sonunda maksimum büyüme hızı 70 µmol foton m⁻² sn⁻¹ ışık şiddetinde 0,38 gün⁻¹ olarak bulundu (4,37 x 10⁹ hücre L⁻¹). Maksimum polisakkarit miktarı ise benzer şekilde 70 µmol foton m⁻² sn⁻¹ ışık yoğunluğunda 0,95 g/l bulundu. Bunun üzerindeki ışık şiddetinde ise değerlerde azalma meydana geldi. 0,67 ve 1,00 x 10⁹ hücre L⁻¹ başlangıç hücre sayılarının ise büyüme hızı üzerinde önemli etkisinin olmadığı görüldü. Sonuç olarak, ışık şiddetinin 70 µmol'a artmasıyla hücre sayısının daha çabuk arttığı ve durgunluk safhasına daha erken gelindiği, dolayısıyla polisakkarit

üretimnin daha hızlı olduğu belirtildi. Ayrıca ışık şiddetinin artmasıyla pigment içeriğinin azaldığı, hücre hacminin ise arttığı belirtildi. Bir çalkalayıcıda mavi-beyaz ışık ile gerçekleştirilen denemede ise 40 μmol 'de ulaşılan büyüme hızı ve polisakkarit miktarı sırasıyla 0,42 bölünme gün⁻¹ ve 4,19 g L⁻¹ olarak bulundu.

Wang ve diğ. (2007), laboratuvar şartlarında 100-300 mL hacme sahip erlenlerde *Porphyridium cruentum*'un çeşitli ortam koşullarında (pH, ışık yoğunluğu, ekim miktarı ve kültür hacmi) maksimum biyomas, fikoeritrin ve polisakkarit miktarlarında meydana gelen değişiklikleri araştırmışlardır. Maksimum biyomas üretimi için (3,14 g L⁻¹) pH değeri 5,0, ışık yoğunluğu 7098 lux, ekim oranı 1 : 17,2 ve kültür hacmi de 100 mL bulunmuştur. Maksimum polisakkarit miktarı için (543,1 mg L⁻¹) ise pH değerinin 5,0, ışık şiddetinin 4501 lux, ekim oranının 1 : 20 ve kültür hacminin de 100.3 mL olması gerektiğini bulmuşlardır.

Csogör ve diğ. (2001) fotobiyoreaktörlerde çevre şartlarının *Porphyridium cruentum*'un büyümesi ve kimyasal kompozisyonu üzerine etkisini araştırmışlar ve ışık yoğunluğunun polisakkarit birikimi üzerine etkisi olmadığını, pigment kompozisyonunu ise etkilediği sonucuna varmışlardır.

Reboloso Fuentes ve diğ. (2000), yapmış oldukları çalışmada kuru ağırlığın % 34,1'ini protein, % 32,1'ini karbonhidrat, % 6,53'ünü yağ ve % 20'sini kül olarak bulmuşlardır. Reboloso Fuentes ve diğ. (1999)'nin tüp fotobiyoreaktörlerde dış ortamda gerçekleştirdikleri çalışmada ise ışık şiddetinin artması sonucu hücrelerden salgılanan polisakkarit miktarının da arttığı sonucuna varıldı.

Hücrelerin polisakkarit miktarı üzerine de çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Geresh ve diğ. 2002'de *Porphyridium cruentum*'den elde edilen polisakkaritlerin reolojik özelliklerini çalışmışlar ve toplam karbonhidrat miktarının kuru ağırlığın ortalama % 56'sını oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Becker (1994)'in yapmış olduğu çalışmada ise kuru ağırlığın % 28-39'unun protein, % 40-57'sinin karbonhidrat, % 9-14'ünün ise yağdan oluştuğu gösterilmiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1. Organizma ve Kültür Koşulları

Denemelerde kullanılan *Porphyridium cruentum* (UTEX 637) Pınar Deniz Ürünleri A.Ş.'den temin edilmiştir. Laboratuvar çalışmaları, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi binasında yer alan plankton stok kültür odasında, büyük hacimli havuz denemeleri ise Dardanos Yerleşkesinde bulunan alg üretim havuzlarında gerçekleştirildi.

Stok kültürler, fototrofik modda ASW (yapay deniz suyu) ortamında (Jones ve diğ., 1963) $75 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde muhafaza edildi. Laboratuvarda gerçekleştirilen denemelerde, 36W Master TL-D/840 floresan lambalar ile kültürler 24 saat sürekli aydınlatma uygulandı. Kesikli modda büyütülen kültürlerin sıcaklığı klimatize ortamda $25 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de sabit tutuldu. Hücrelerin kültür içinde sürekli şekilde hava ile karışımı Medo LA-100 marka hava motoru ile 1 L dak^{-1} hava şiddetinde gerçekleştirildi. Fotosentezde aktif olarak kullanılan 400-700 nm dalga boyları arasındaki aydınlatma (PAR) değeri LI-250A ışık ölçer ile ölçüldü (Li-Cor, USA). ASW ortamının kompozisyonu Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. ASW ortamında bulunan besin tuzları

Besin Tuzu	Miktar (g/l)	İz element solüsyonu	
NaCl	27,00	ZnCl ₂	4,0 mg
MgSO ₄ 7 H ₂ O	6,60	H ₃ BO ₃	60,0 mg
MgCl ₂ 6 H ₂ O	5,60	CoCl ₂ 6 H ₂ O	1,5 mg
CaCl ₂ 2 H ₂ O	1,50	CuCl ₂ 2H ₂ O	4,0 mg
KNO ₃	1,00	MnCl ₂ 4H ₂ O	40,0 mg
KH ₂ PO ₄	0,07	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ 4H ₂ O	37,0 mg
NaHCO ₃	0,04	Saf su	1 litre
İz elem. sol.	1 mL L ⁻¹		

3.2. Deneme Grupları

Çalışmada 4 farklı deneme grubu oluşturulmuş olup, ilk denemede 1 L cam şişelerde (10 cm çap) farklı sıcaklık (18, 22 ve 26 °C) ve ışık yoğunluklarında (50, 100 ve 150 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$) *Porphyridium cruentum*'un büyüme ve polisakkarit üretme özelliği tespit edilmiştir. Denemeler steril büyüme ortamında gerçekleştirildi. 18 °C'de gerçekleştirilen deneme grubu kültür dolabında, 26 °C'deki deneme ise içinde 1 adet ısıtıcı bulunan ve içi 4 cm su dolu cam akvaryumda gerçekleştirildi. 22 °C deneme grubunun sıcaklığı ise klima ile sabit tutuldu. Buna göre, farklı sıcaklıklarda bulunan grupların her birine yukarıda belirtilen 3 farklı ışık şiddeti uygulandı (Şekil 2).



Şekil 2. Laboratuvarda gerçekleştirilen küçük ölçekli deneme düzeneği

İkinci denemede, farklı ışık yolu uzunluğuna sahip şeffaf plastik bidonlar kullanılarak büyüme özellikleri incelendi. Buna göre, 5, 10 ve 19 L hacme sahip bidonların ışık yolu uzunlukları sırasıyla 17,5, 23,0 ve 27,5 cm şeklinde bulundu.

Tüm gruplardaki kültür yüksekliği eşit tutularak, her grubun eşit şiddette aydınlanması sağlandı.

Laboratuvar denemelerinin sonuncusunu 20 L hacme sahip polietilen (PE) torbalarda gerçekleştirilen üretim oluşturdu. PE torbalar iki noktadan floresan lambalar ile aydınlatıldı. PE torbalarda gerçekleştirilen denemede iki farklı ışık şiddetinin (60 ve 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$) büyüme üzerine olan etkisi araştırıldı (Şekil 3).



Şekil 3. Laboratuvarda gerçekleştirilen polietilen torba kültürleri

Son denemede ise PE torbalarda büyütülen hücreler, sera içinde bulunan (8 m x 1.6 m) ve bir çark yardımıyla kültür karışımı sağlanan havuza alınarak, büyüme özellikleri tespit edildi. Yaklaşık 1000 L hacimde gerçekleştirilen denemede kültür derinliği 10 cm'de tutuldu (Şekil 4).



Şekil 4. Dış ortamda gerçekleştirilen havuz kültürleri

3.3. Analitik Ölçümler

Kuru ağırlık tayini için alınan 5 mL örnek, ilk olarak 3500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Dibe çöken biyomas kültür ortamından ayrıldıktan sonra üzerine 5 mL kültür ortamı ilave edildi. Bu sayede, *Porphyridium* hücrelerinden ortama geçen polisakkaritin filtre kağıdında ekstra ağırlık yaratması, dolayısıyla yanlış sonuç alınması önlenmiş oldu. Santrifüj edilen bu örnek vorteks karıştırıcıda tekrar homojen hale getirildikten sonra önceden kurutulup darası alınmış Whatman GF/C fiberglas filtrelerden süzülüp saf sudan geçirildi. Bu filtreler 105 °C'ye ayarlı etüvde üç saat kurutulduktan sonra sonuçlar hassas terazide $g L^{-1}$ cinsinden elde edildi. Her bir ölçüm için iki tekrar uygulandı.

Kültür büyümesini takip etmede en önemli parametrelerden olan hücre sayımı işlemi Neubauer sayma kamarasında 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Absorbans

değerleri ise kültürden alınan örneğin 750 nm dalga boyunda okutulması ile elde edildi. Büyüme ortamında çözünmüş halde bulunan polisakkaritin absorbans değerlerinde sapmaya neden olmaması için kültürden alınan örnekler santrifüj edilmiş ve süpernatant alınmıştır. Elde edilen bu süpernatant spektrofotometrik ölçümlerde kör örnek olarak kullanılmıştır. Spektrofotometrik ölçümler Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Planktoloji laboratuvarında bulunan Jasco U.V. model 530 marka spektrofotometre ile yapılmıştır.

Porphyridium hücrelerindeki toplam karbonhidrat miktarı Dubois (1956)'e göre tespit edildi. Buna göre, toplam karbonhidrat miktarının hesaplanabilmesi için ilk olarak standart eğrisi hazırlanmıştır. Bu amaçla gerçekleştirilen işlemler aşağıda belirtilmiştir;

- 500 mg D-galaktoz 100 mL saf suda çözündürülmüştür ve stok solüsyon hazırlanmıştır.
- Stok solüsyondan 0,25, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 4,0, 8,0, 12,0 ve 16,0 mL örnek alınarak 100 mL saf suya tamamlandı. Bu işlemin sonucunda 12,5, 25, 50, 100, 200, 400, 600 ve 800 mg L⁻¹ dozlarında solüsyonlar elde edildi.
- Elde edilen bu solüsyonlar spektrofotometrede 490 nm dalga boyunda okutuldu.
- Her doz için 490 nm'de okunan değerler grafiğe konarak formül elde edildi. Kültürlerde 490 nm'de okunan absorbans değerleri bu formüle konarak toplam karbonhidrat miktarı tespit edildi (Dubois, 1956).

Toplam karbonhidrat miktarını tespit etmek amacıyla, kültür ortamından alınan 1 mL örnek santrifüj edildi. Bir pastör pipetiyle süpernatant dikkatlice tahliye edildikten sonra, üzerine 1 mL saf su ve 1 mL % 5'lik fenol ilave edildi. Oda sıcaklığında 40 dakika beklendikten sonra 5 mL sülfürik asit ilave edildi. Sülfürik asit ilave ettikten sonra oda sıcaklığında 10 dakika daha beklendi. Daha sonra 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant spektrofotometrede 490 ve 750 nm dalga boylarında okutulmuştur. 490 nm dalga boyunda okutulan değer daha önceden hazırlanmış standart eğrisindeki formüle konarak hücrelerdeki toplam karbonhidrat miktarı tespit edildi (Dubois, 1956).

Kültürdeki toplam polisakkarit miktarı Unrau (1964)'ya göre hesaplandı. Bu amaçla, alınan örneğe ilk olarak NaOH çözeltisi eklenerek pH 13,4'e kadar yükseltildi. Örnekte bulunan proteini dekompoze etmek amacıyla örnek 1 saat kaynatıldı ve soğumaya bırakıldı. Asitleştirme işlemi için HCl kullanıldıktan sonra, polisakkaritleri yoğunlaştırmak amacıyla örnek üç hacim etanol içine karıştırılarak döküldü. Üst kısımda beyaz lifler halinde toplanan polisakkaritler 100 µm göz açıklığına sahip plankton bezinden süzülerek, etüvde 40 °C'de önceden darası alınmış olan petri kaplarında 24 saat kurutuldu. Daha sonra gram cinsinden ağırlık ölçüldü (Şekil 5).



Şekil 5. Kültürden elde edilen polisakkarit

Örnekleredeki % cinsinden toplam yağ miktarı ise Folch metoduna göre bulundu (Folch ve diğ., 1957). Ölçüm amacıyla 1 g kurutulmuş örneğe ihtiyaç duyulduğu için laboratuvarında 1 L cam şişelerde gerçekleştirilen denemelerde yağ miktarı ölçülmedi. Kurutulmuş örnekten 1 g tartılarak 25 mL'lik balon jojeye kondu. Balon joje üzerine 10 mL metanol-kloroform karışımı (1:2, v/v) ilave edildikten sonra örnek bir gece karanlıkta oda sıcaklığında bekletildi. Ertesi gün balon jojedeki örnek süzülerek, önceden darası alınmış 250 mL'lik balon jojeye konuldu. Örnekteki

metanol-kloroform karışımı buharlaşmaya kadar 60 °C'de (80 rpm) evaporatörde tutuldu. Evaporatörden çıkarılan örnek etüvde 50 °C'de ağırlıkta herhangi bir değişim meydana gelmeyinceye kadar kurutuldu. Etüvden alınan örnek desikatörde soğutularak hassas terazide tartıldı. % Yağ aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

$$\% \text{ Yağ} = (\text{balon joje ağırlığı} - \text{balon joje darası}) \times 100 / \text{örnek ağırlığı}$$

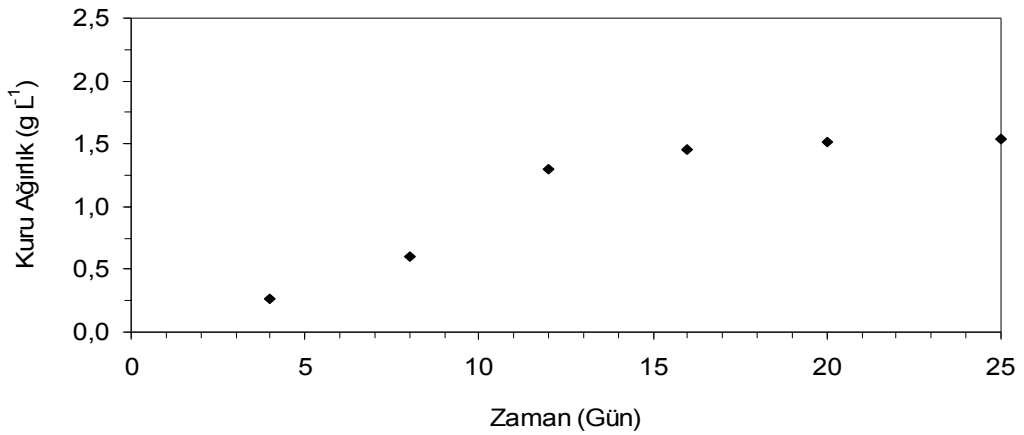
BÖLÜM 4

BULGULAR

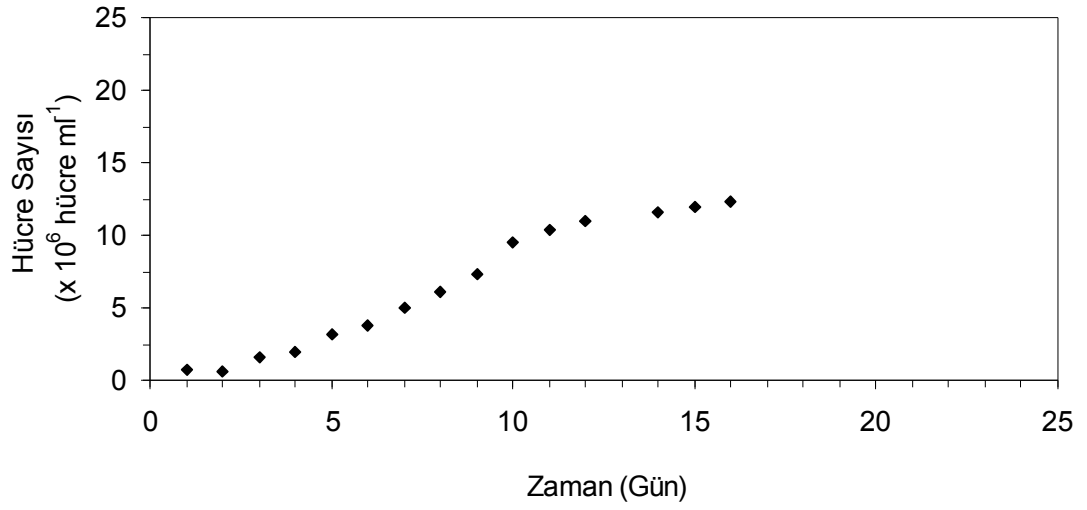
4.1. Küçük Ölçekli Çalışmalar

4.1.1. Işık ve Sıcaklığın Etkisi

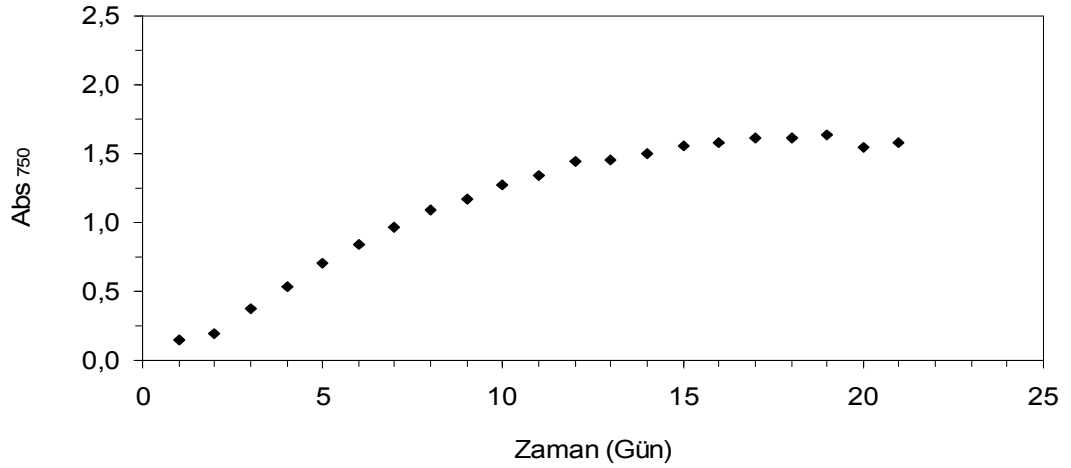
Işık ve sıcaklığın büyüme ve polisakkarit biriktirme üzerine etkilerinin incelendiği denemede 18, 22 ve 26 °C sıcaklıkların her biri için sırasıyla 50, 100 ve 150 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ 'lik ışık şiddetleri uygulandı. Tüm denemeler 1 L hacme sahip silindirik cam şişelerde yürütüldü ve 0,1 g L⁻¹ kuru ağırlık değeri ile başladı. Hücreler 15. günden sonra kümeleştikleri için çok zor sayıldı. Bu nedenle, kümeleşmeler meydana geldikten sonra hücre sayımları yapılmadı. Buna göre 18 °C'de 50 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kültürün kuru ağırlık, hücre sayısı ve absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 6-8'de verildi. Kuru ağırlık değerinin 12. güne kadar hızla arttığı görüldü (1,35 g L⁻¹). 25 gün takip edilen kültürde deneme sonunda 1,54 g L⁻¹ ağırlığa ulaşıldı. Hücre sayısı da kuru ağırlık değerine benzer şekilde 12. güne kadar arttı (11,0 x 10⁶ hücre mL⁻¹). 16. günde ise 12,3 x 10⁶ hücre mL⁻¹ değere ulaşıldı. Hücrelerde en yüksek polisakkarit içeriği ise 12. günde elde edildi ve kuru ağırlığının % 45'ini oluşturdu. Takip eden günlerde ise kuru ağırlığının ortalama % 42,25 ± 0,25'ini oluşturdu. 16. günde hücredeki polisakkarit miktarı 0,63 g L⁻¹ iken kültürdeki miktar 0,70 g L⁻¹ bulundu.



Şekil 6. 18 °C'de 50 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler

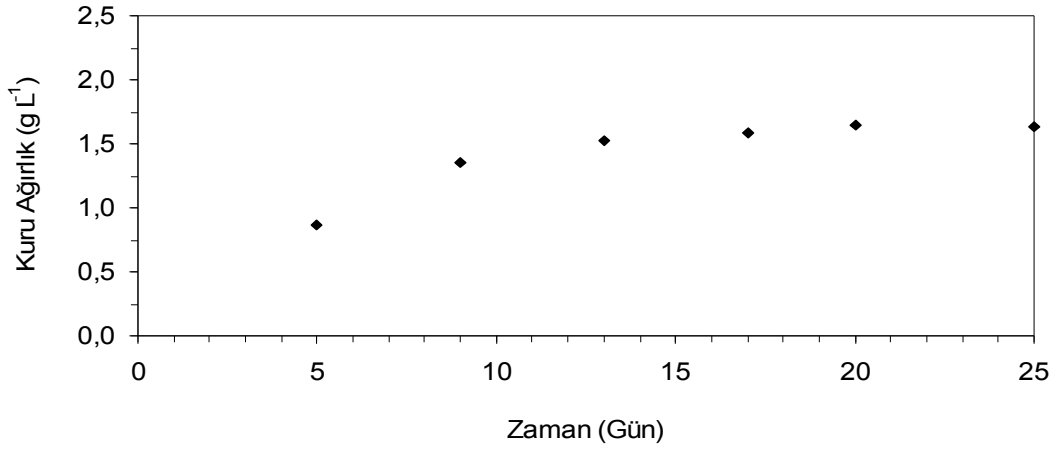


Şekil 7. 18 °C'de 50 µmol foton m⁻² sn⁻¹ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler

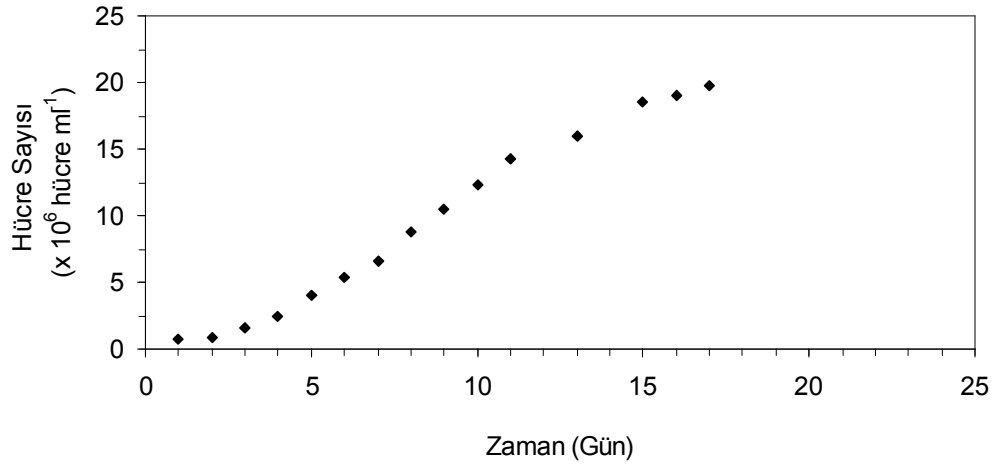


Şekil 8. 18 °C'de 50 µmol foton m⁻² sn⁻¹ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler

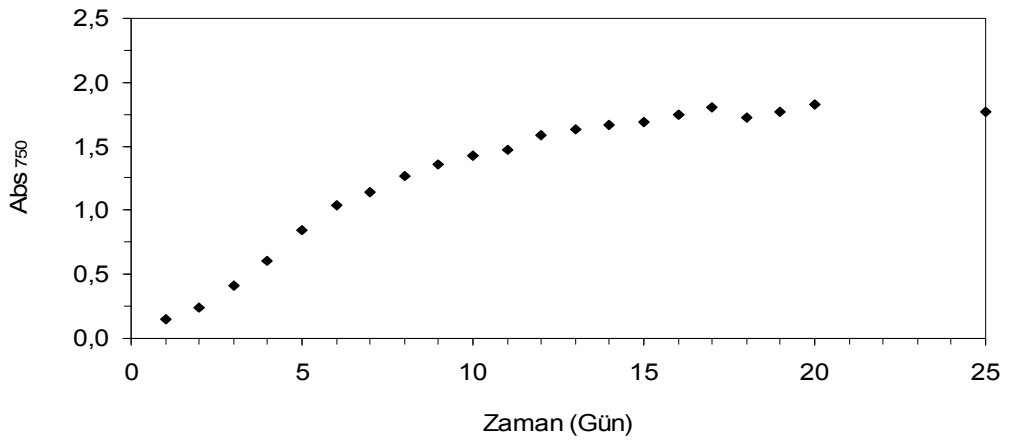
18 °C'de 100 µmol foton m⁻² sn⁻¹ ışık şiddetinde kültürün kuru ağırlık, hücre sayısı ve absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 9-11'de verildi. Deneme sonunda ulaşılan kuru ağırlık değeri 1,6 g L⁻¹ olarak bulundu. Hücre sayısı ise 17. güne kadar artarak 19,7 x 10⁶ hücre mL⁻¹'ye ulaştı. En yüksek polisakkarit içeriğine kuru ağırlığının ortalama % 42,16 ± 0,54'ü ile 13 – 17. günler arası ulaşıldı. 17. günde hücredeki polisakkarit miktarı 0,68 g L⁻¹ iken kültürdeki miktar 0,79 g L⁻¹ bulundu.



Şekil 9. 18 °C’de 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler

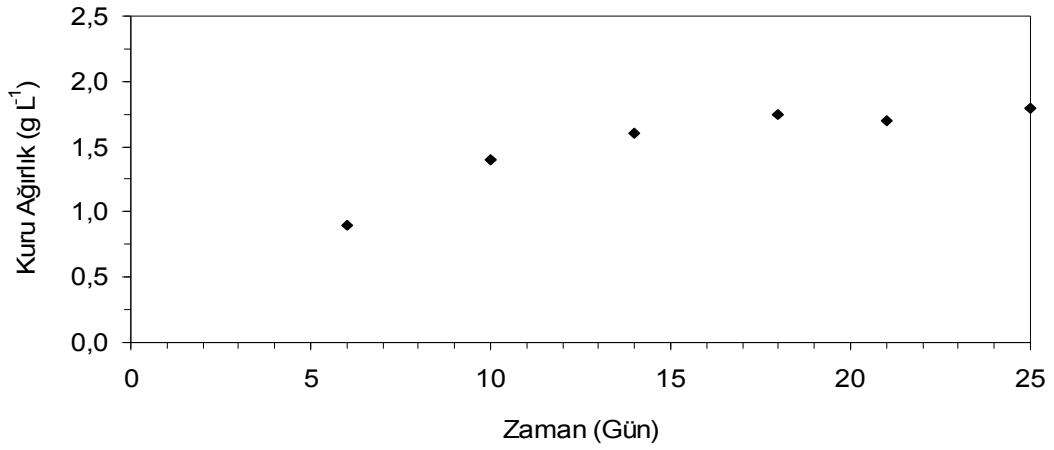


Şekil 10. 18 °C’de 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler

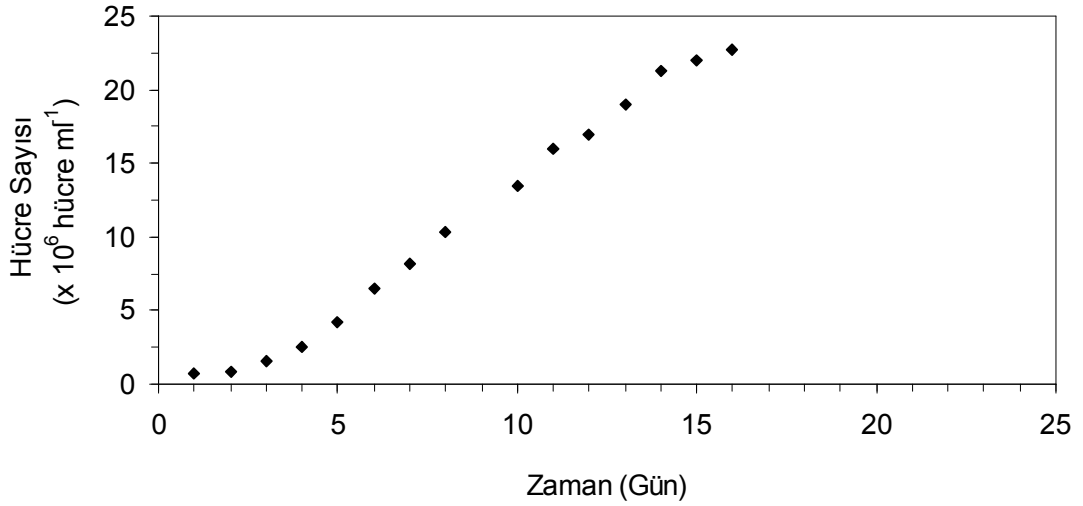


Şekil 11. 18 °C’de 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler

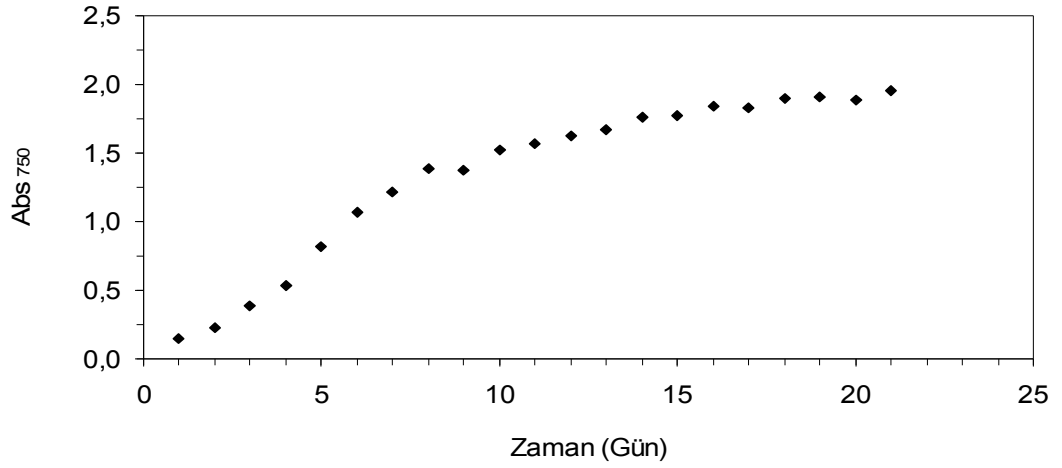
18 °C’de 150 μmol foton $\text{m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kültürün kuru ağırlık, hücre sayısı ve absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler ise Şekil 12-14’te verildi. Deneme sonunda ulaşılan kuru ağırlık değeri 1,8 g L^{-1} olarak bulundu. Hücre sayısı ise 16. güne kadar artarak $22,6 \times 10^6$ hücre mL^{-1} ’ye ulaştı. En yüksek polisakkarit içeriğine kuru ağırlığının ortalama $\% 41,37 \pm 0,71$ ’i ile 10 – 21. günler arası ulaşıldı. 18. günde hücredeki polisakkarit miktarı 0,69 g L^{-1} iken kültürdeki miktar 0,83 g L^{-1} bulundu.



Şekil 12. 18 °C’de 150 μmol foton $\text{m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler

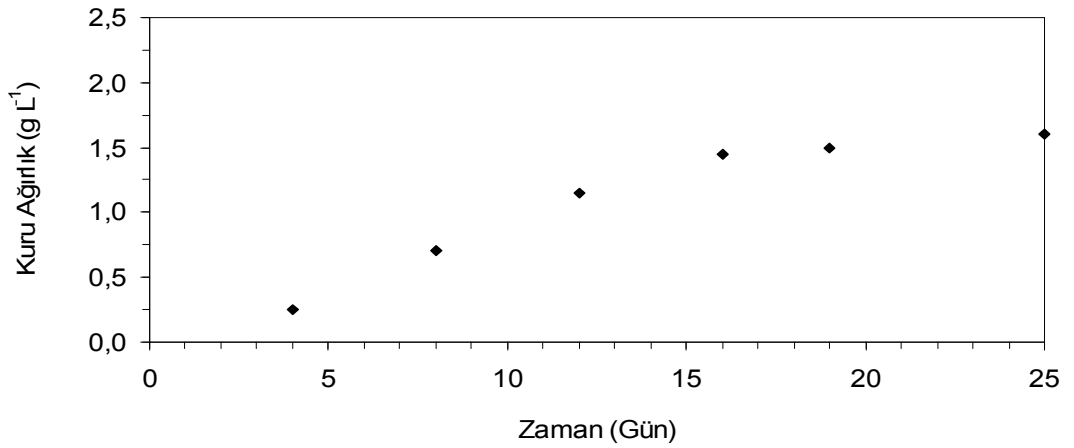


Şekil 13. 18 °C’de 150 μmol foton $\text{m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler

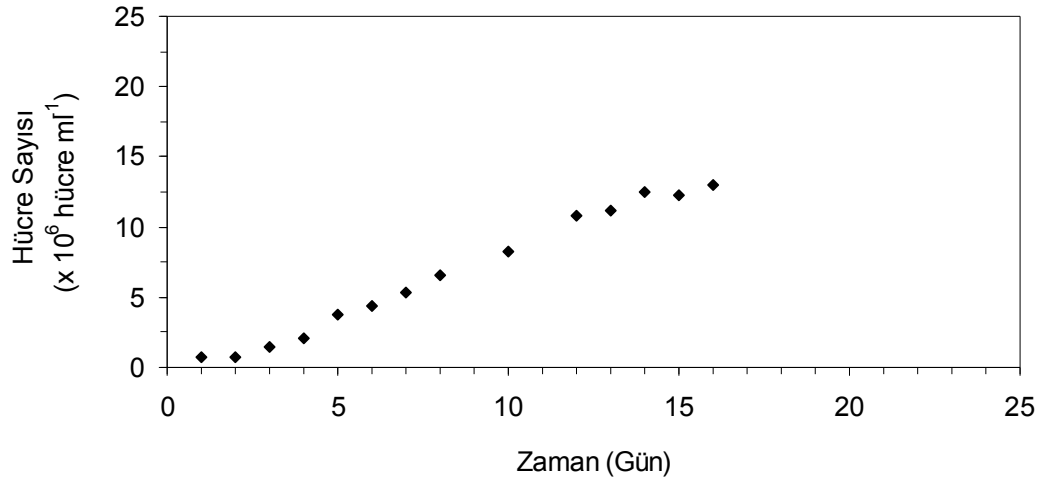


Şekil 14. 18 °C'de 150 µmol foton m⁻² sn⁻¹ ışık şiddetinde absorbans değeri meydana gelen değişimler

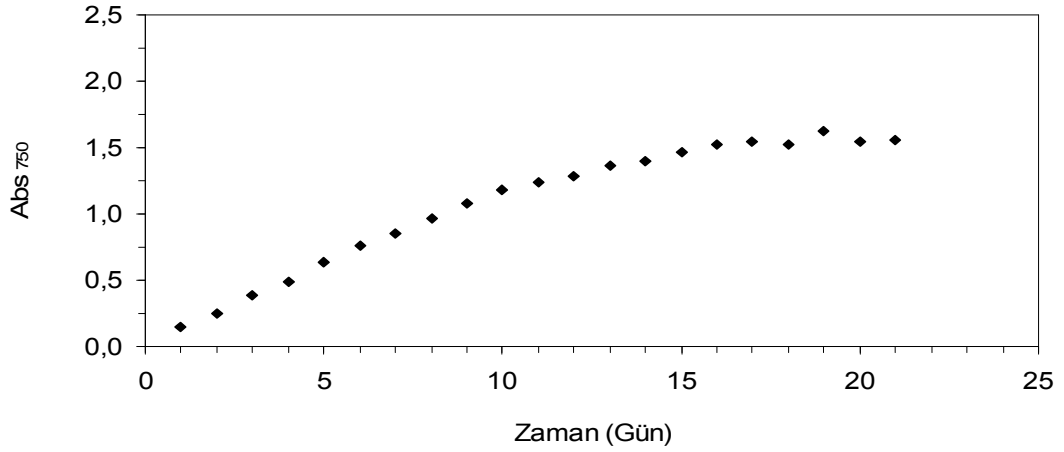
22 °C'de 50 µmol foton m⁻² sn⁻¹ ışık şiddetinde kültürün kuru ağırlık, hücre sayısı ve absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler ise Şekil 15-17'de verildi. Deneme sonunda ulaşılan kuru ağırlık değeri 1,6 g L⁻¹ olarak bulundu. Hücre sayısı ise 14. güne kadar artarak 12,5 x 10⁶ hücre mL⁻¹'ye ulaştı. 16. günde ise 13,0 x 10⁶ hücre mL⁻¹'ye ulaşıldı. En yüksek polisakkarit içeriğine kuru ağırlığının ortalama % 44,41 ± 0,83'ü ile 16. günde ulaşıldı. 16. günde hücredeki polisakkarit miktarı 0,64 g L⁻¹ iken kültürdeki miktar 0,69 g L⁻¹ bulundu.



Şekil 15. 22 °C'de 50 µmol foton m⁻² sn⁻¹ ışık şiddetinde kuru ağırlık değeri meydana gelen değişimler

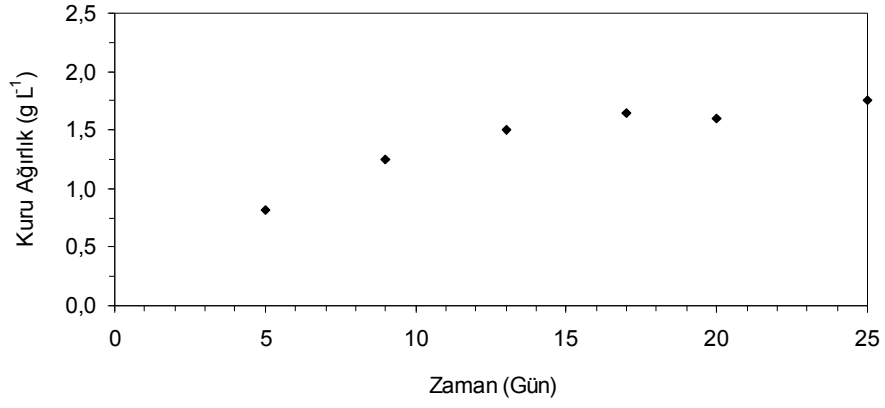


Şekil 16. 22 °C’de 50 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler

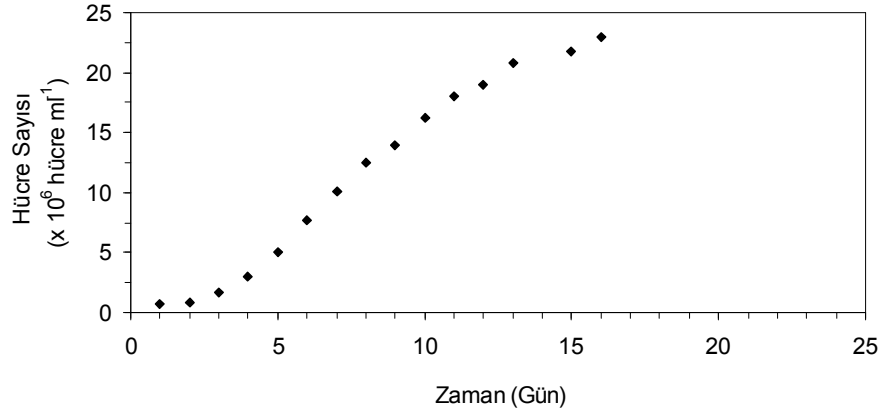


Şekil 17. 22 °C’de 50 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler

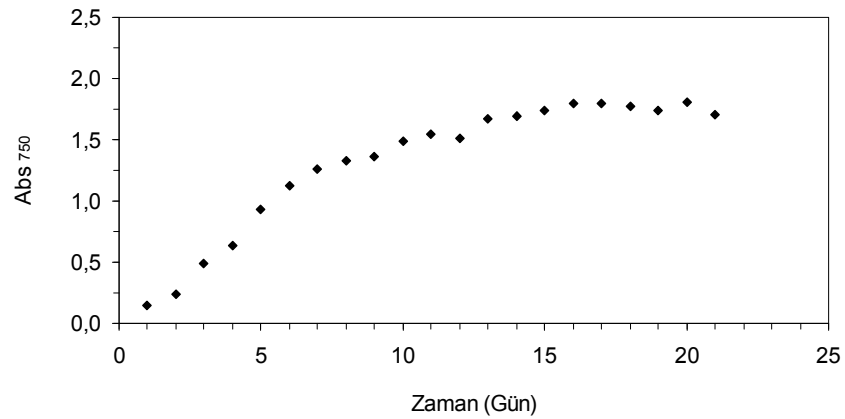
22 °C’de 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kültürün kuru ağırlık, hücre sayısı ve absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 18-20’de verildi. Deneme sonunda ulaşılan kuru ağırlık değeri 1,75 g L⁻¹ olarak bulundu. Hücre sayısı ise 16. güne kadar artarak 23,1 x 10⁶ hücre mL⁻¹’ye ulaştı. En yüksek polisakkarit içeriğine kuru ağırlığının ortalama % 43,90 ± 0,68’i ile 9 – 17. günler arasında ulaşıldı. 17. günde hücredeki polisakkarit miktarı 0,71 g L⁻¹ iken kültürdeki miktar 0,84 g L⁻¹ bulundu.



Şekil 18. 22 °C’de $100 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler

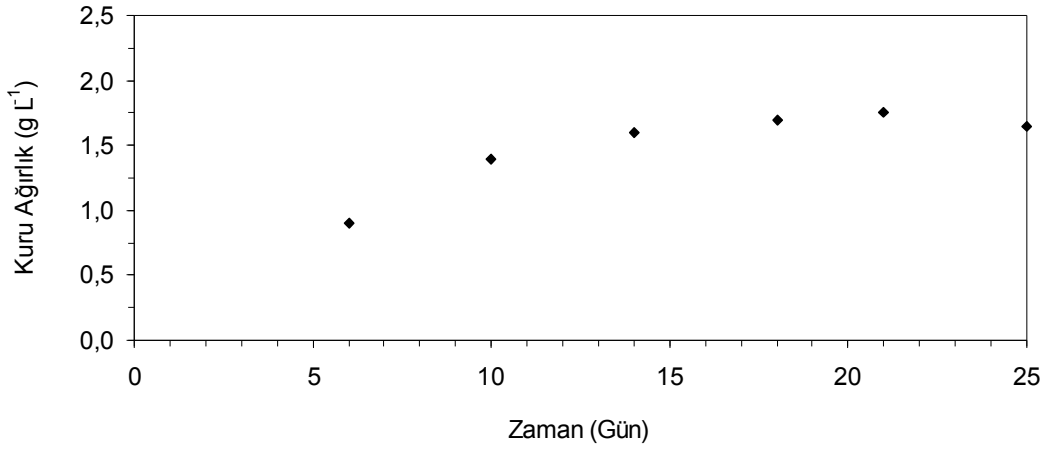


Şekil 19. 22 °C’de $100 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler

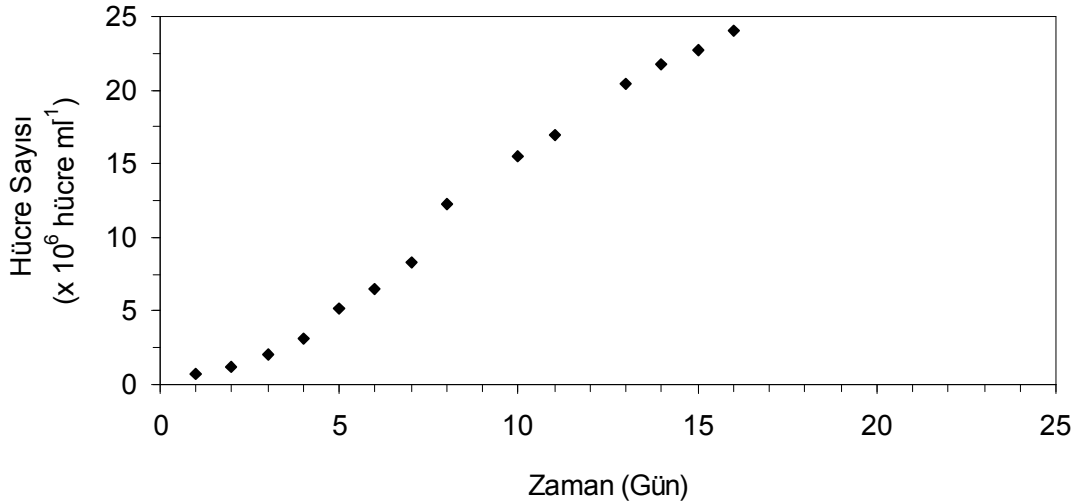


Şekil 20. 22 °C’de $100 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler

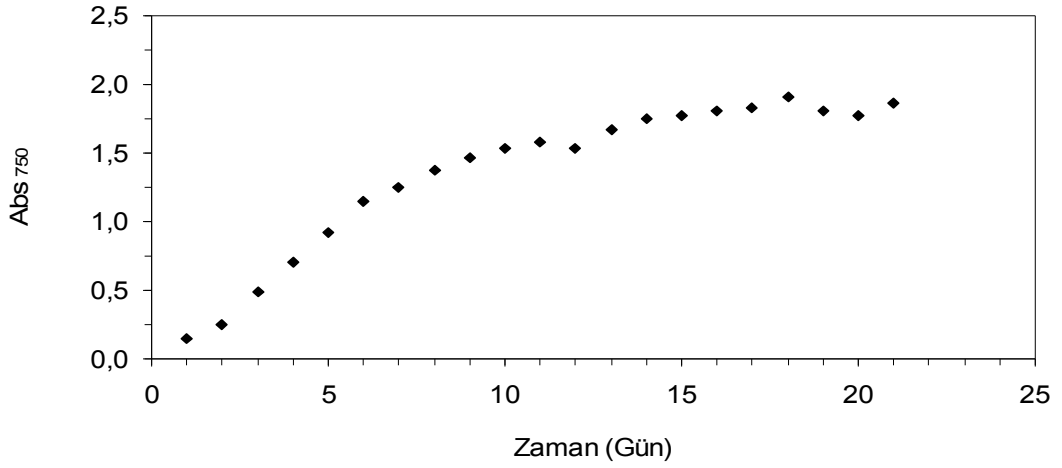
22 °C'de 150 μmol foton $\text{m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kültürün kuru ağırlık, hücre sayısı ve absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 21-23'te verildi. Deneme sonunda ulaşılan en yüksek kuru ağırlık değeri 21. günde 1,75 g L^{-1} olarak bulundu. Hücre sayısı ise 16. güne kadar artarak $23,9 \times 10^6$ hücre mL^{-1} 'ye ulaştı. En yüksek polisakkarit içeriğine kuru ağırlığının % $41,93 \pm 0,72$ 'si ile 10. günde ulaşıldı. Takip eden günlerde ise hafif düşerek % 39 dolayında seyretti. 18. günde hücredeki polisakkarit miktarı 0,66 g L^{-1} iken kültürdeki miktar 0,91 g L^{-1} bulundu.



Şekil 21. 22 °C'de 150 μmol foton $\text{m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler

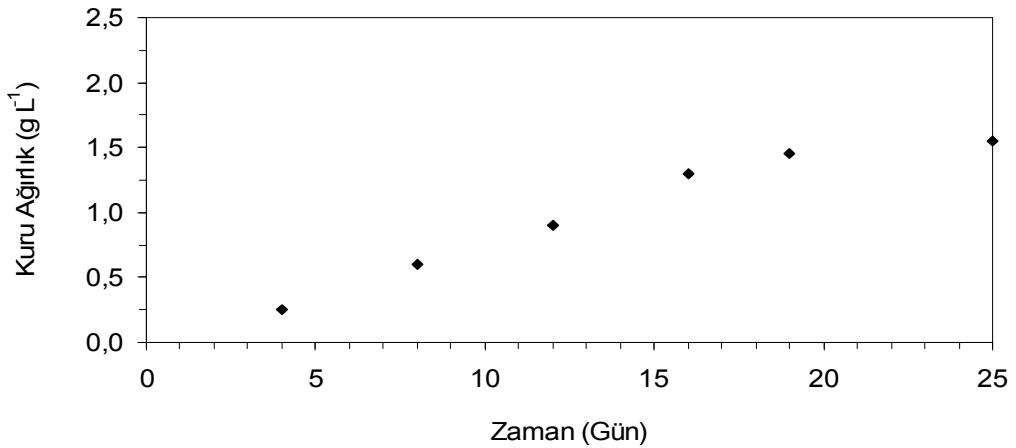


Şekil 22. 22 °C'de 150 μmol foton $\text{m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler

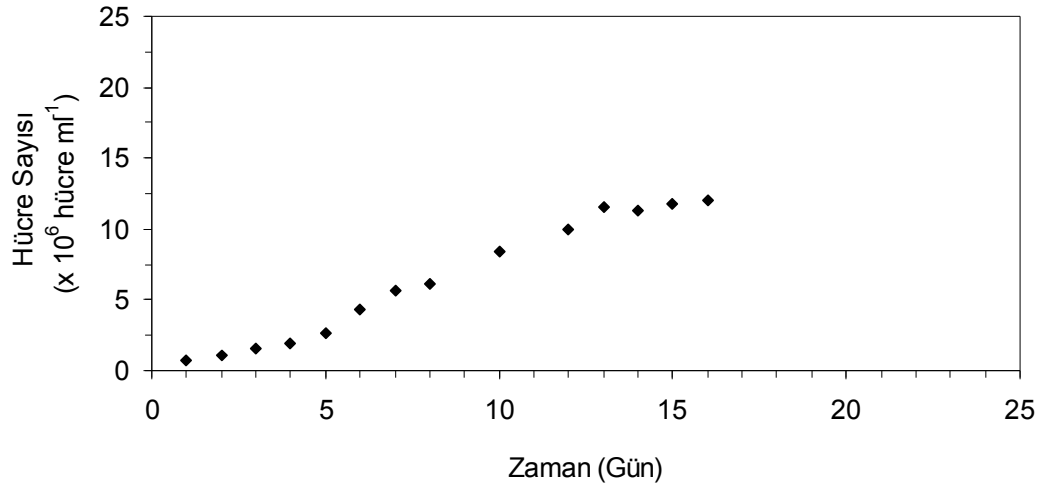


Şekil 23. 22 °C'de 150 µmol foton m⁻² sn⁻¹ ışık şiddetinde absorbans değeri meydana gelen değişimler

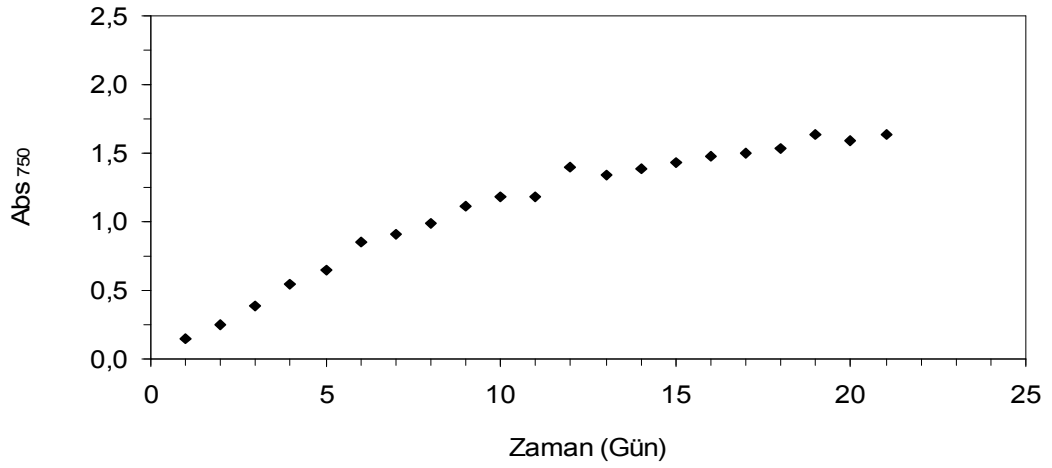
26 °C'de 50 µmol foton m⁻² sn⁻¹ ışık şiddetinde kültürün kuru ağırlık, hücre sayısı ve absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 24-26'da verildi. Ulaşılan en yüksek kuru ağırlık değeri 25. günde 1,55 g L⁻¹ olarak bulundu. Hücre sayısı ise 13. güne kadar artarak 11,5 x 10⁶ hücre mL⁻¹'ye ulaştı. Deneme sonunda ise 12,1 x 10⁶ hücre mL⁻¹ sayıya ulaştı. 8 – 16. günler arasında ortalama polisakkarit içeriği kuru ağırlığının % 44,28 ± 0,89'u oranında bulundu. 16. günde hücredeki polisakkarit miktarı 0,59 g L⁻¹ iken kültürdeki miktar 0,65 g L⁻¹ bulundu.



Şekil 24. 26 °C'de 50 µmol foton m⁻² sn⁻¹ ışık şiddetinde kuru ağırlık değeri meydana gelen değişimler

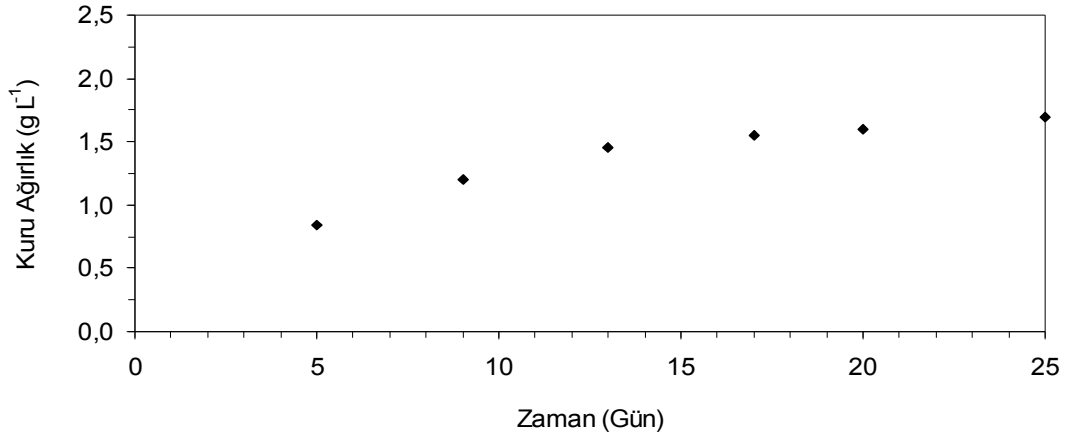


Şekil 25. 26 °C'de 50 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler

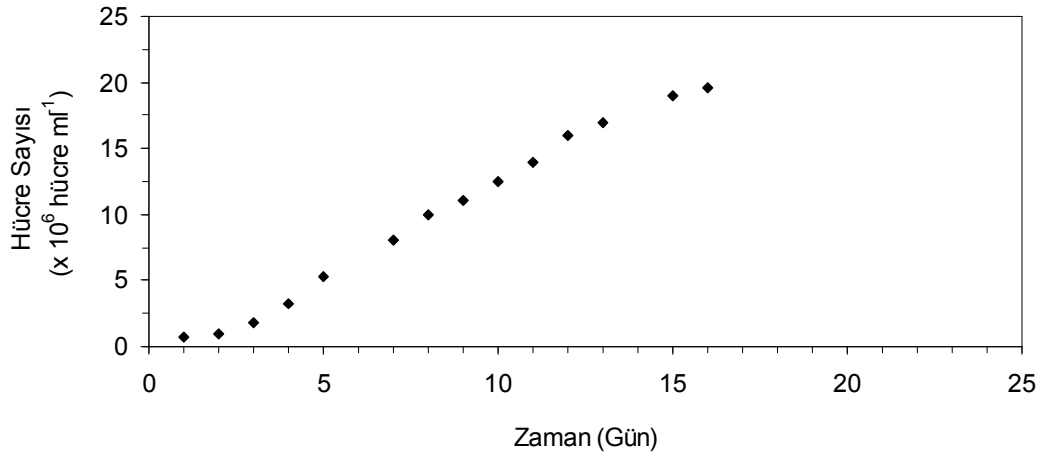


Şekil 26. 26 °C'de 50 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler

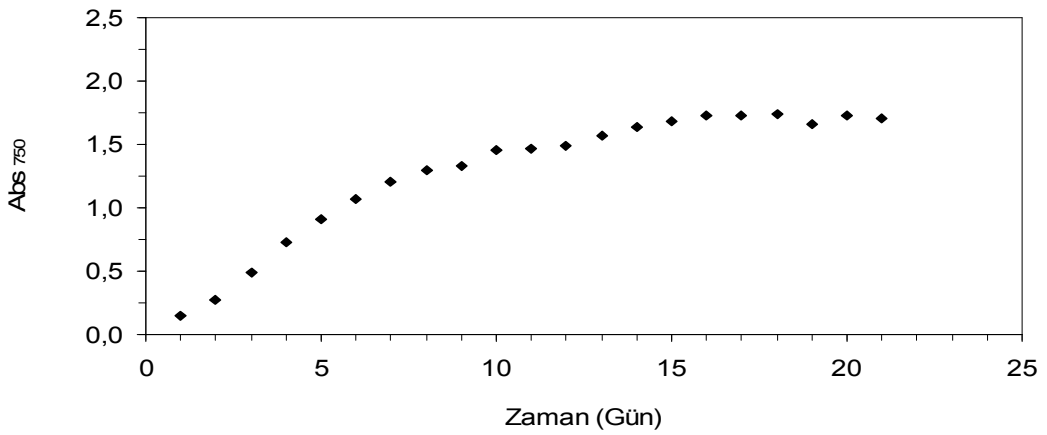
26 °C'de 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kültürün kuru ağırlık, hücre sayısı ve absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 27-29'da verildi. Deneme sonunda ulaşılan en yüksek kuru ağırlık değeri 25. günde 1,71 g L⁻¹ olarak bulundu. Hücre sayısı ise 16. güne kadar artarak 19,6 x 10⁶ hücre mL⁻¹'ye ulaştı. 9 – 17. günler arasında ortalama polisakkarit içeriği kuru ağırlığının % 42,28 ± 0,73'ü oranında bulundu. 17. günde hücredeki polisakkarit miktarı 0,66 g L⁻¹ iken kültürdeki miktar 0,79 g L⁻¹ bulundu.



Şekil 27. 26 °C’de $100 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler

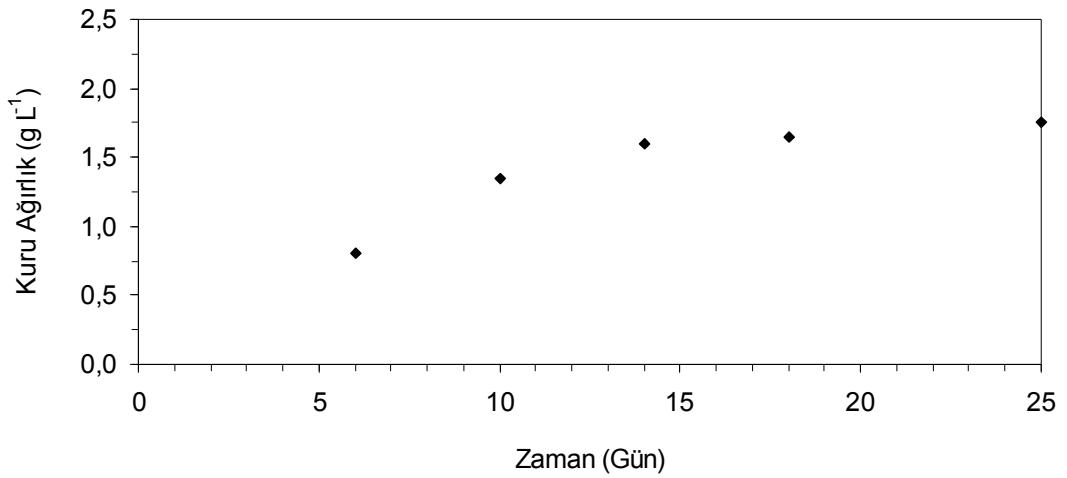


Şekil 28. 26 °C’de $100 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler

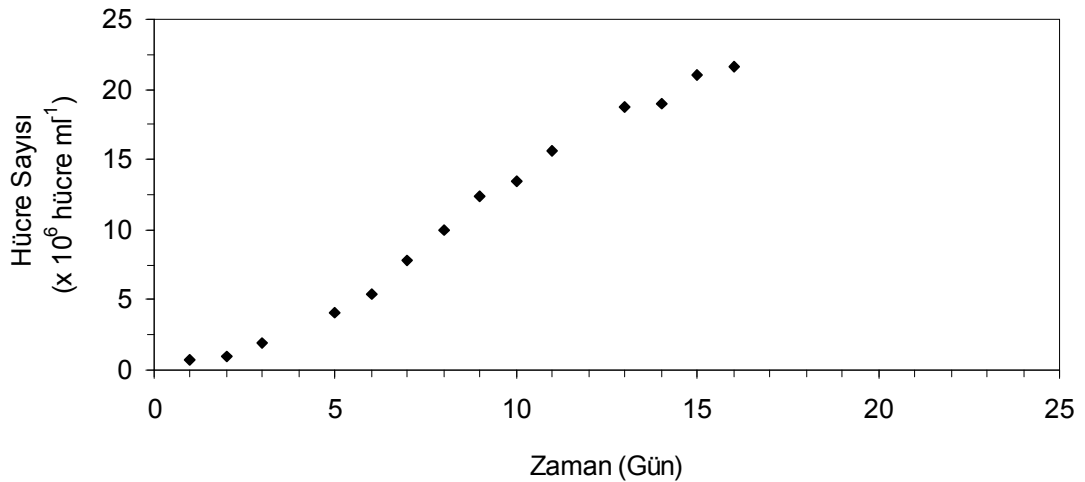


Şekil 29. 26 °C’de $100 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler

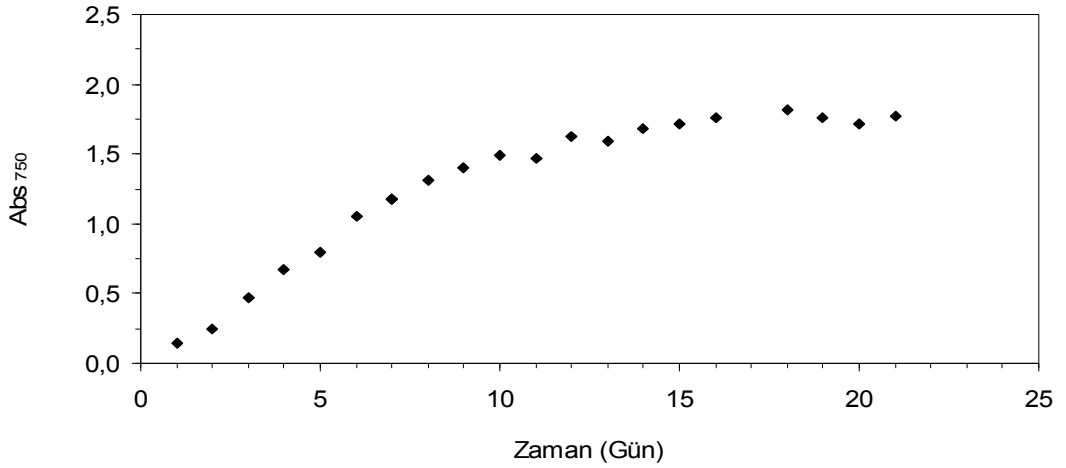
26 °C’de 150 μmol foton $\text{m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kültürün kuru ağırlık, hücre sayısı ve absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 30-32’de verildi. Deneme sonunda ulaşılan en yüksek kuru ağırlık değeri 25. günde 1,76 g L^{-1} olarak bulundu. Hücre sayısı ise 16. güne kadar artarak $21,5 \times 10^6$ hücre mL^{-1} ’ye ulaştı. 6 – 10. günler arasında ortalama polisakkarit içeriği kuru ağırlığının % $41,33 \pm 0,45$ iken bu oran 14 – 18. günler arasında % $38,41 \pm 0,34$ ’e geriledi. 18. günde hücredeki polisakkarit miktarı 0,63 g L^{-1} iken kültürdeki miktar 0,98 g L^{-1} bulundu.



Şekil 30. 26 °C’de 150 μmol foton $\text{m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler



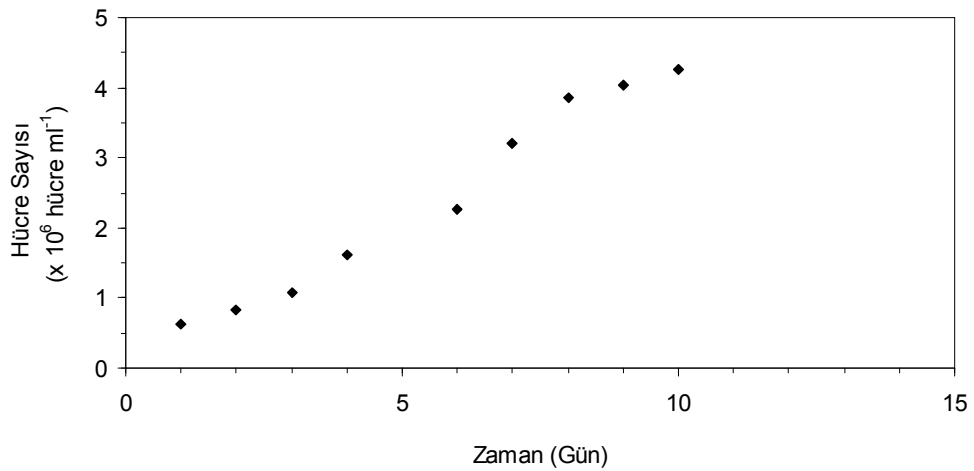
Şekil 31. 26 °C’de 150 μmol foton $\text{m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler



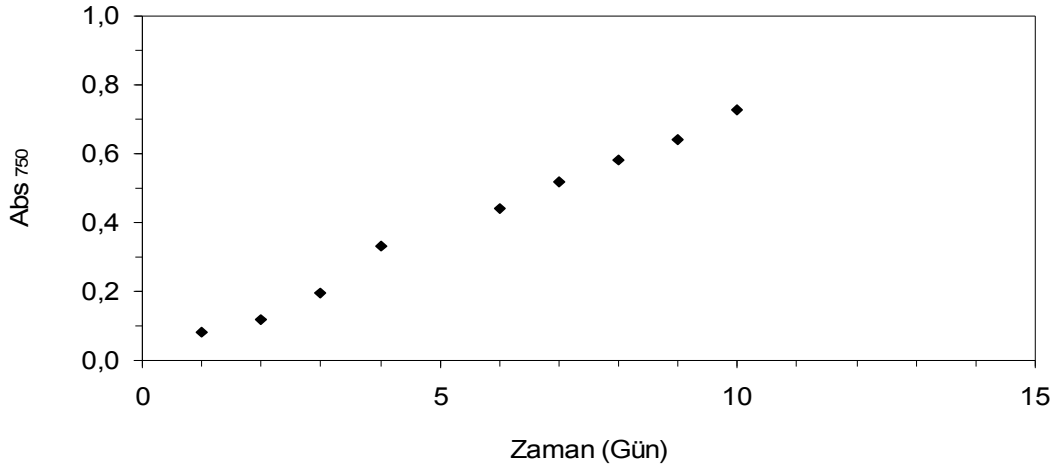
Şekil 32. 26 °C'de 150 µmol foton m⁻² sn⁻¹ ışık şiddetinde absorptans değeri meydana gelen değişimler

4.1.2. Işık Yolu Uzunluğunun Etkisi

Farklı ışık yolu uzunluklarının büyüme üzerine etkilerini araştırmak amacıyla 5, 10 ve 19 L hacme sahip şeffaf plastik bidonlar kullanıldı ve deneme 10 gün sürdürüldü. Bidonların ışık yolu uzunlukları sırasıyla 17,5, 23,0 ve 27,5 cm ölçüldü. 5 L hacme sahip (17,5 cm) kültürün hücre sayısı ve absorptans değeri meydana gelen değişimler Şekil 33-34'te verildi. Hücre sayısı deneme sonuna kadar artış gösterdi ve 4,2 x 10⁶ hücre mL⁻¹'ye ulaştı.

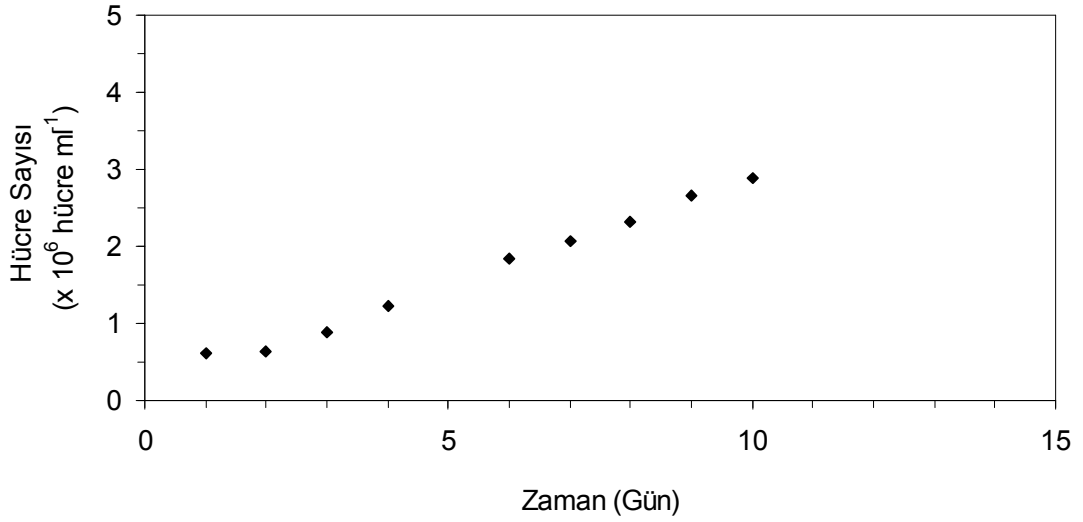


Şekil 33. 17,5 cm ışık yolu uzunluğunda hücre sayısında meydana gelen değişimler

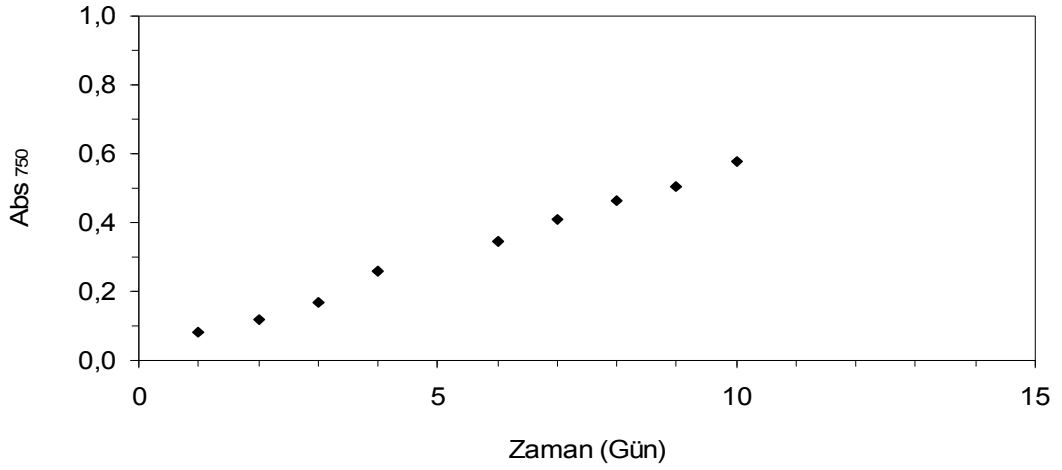


Şekil 34. 17,5 cm ışık yolu uzunluğunda absorbans değerinde meydana gelen değişimler

10 L hacme sahip (23,0 cm) kültürün hücre sayısı ve absorbans değerinde meydana gelen değişimler ise Şekil 35-36'da verildi. Hücre sayısı deneme sonuna kadar artış gösterdi ve $2,9 \times 10^6$ hücre mL^{-1} 'ye ulaştı.

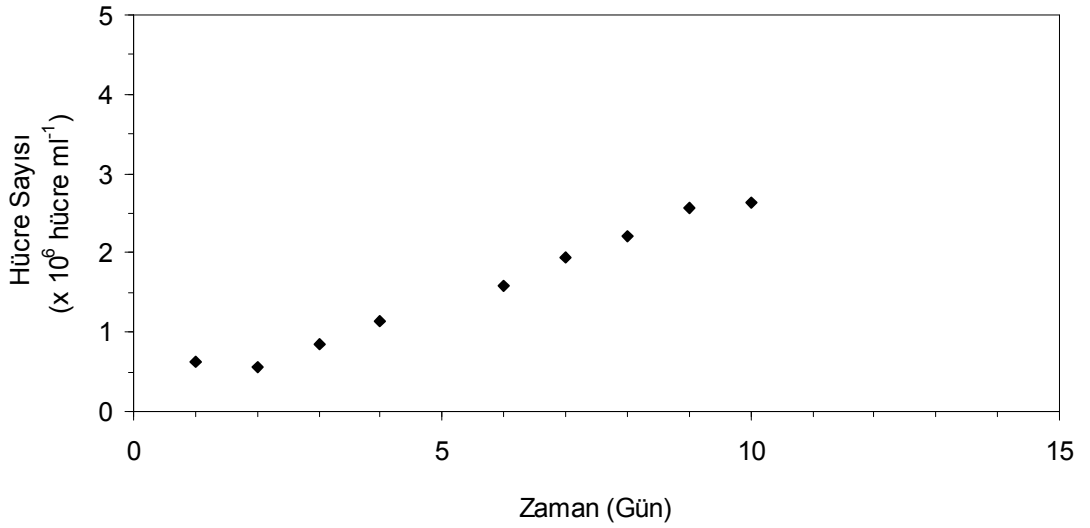


Şekil 35. 23,0 cm ışık yolu uzunluğunda hücre sayısında meydana gelen değişimler

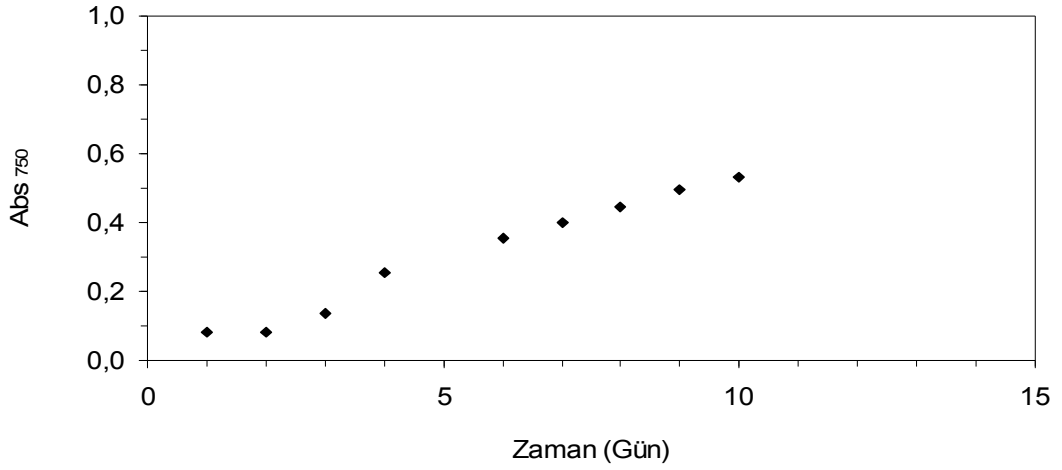


Şekil 36. 23,0 cm ışık yolu uzunluğunda absorbans değerinde meydana gelen değişimler

19 L hacme sahip (27,5 cm) kültürün hücre sayısı ve absorbans değerinde meydana gelen değişimler ise Şekil 37-38'de verildi. Hücre sayısındaki artış 9. güne kadar devam etti. Deneme sonunda ulaşılan hücre sayısı $2,6 \times 10^6$ hücre mL^{-1} şeklinde bulundu.



Şekil 37. 27,5 cm ışık yolu uzunluğunda hücre sayısında meydana gelen değişimler



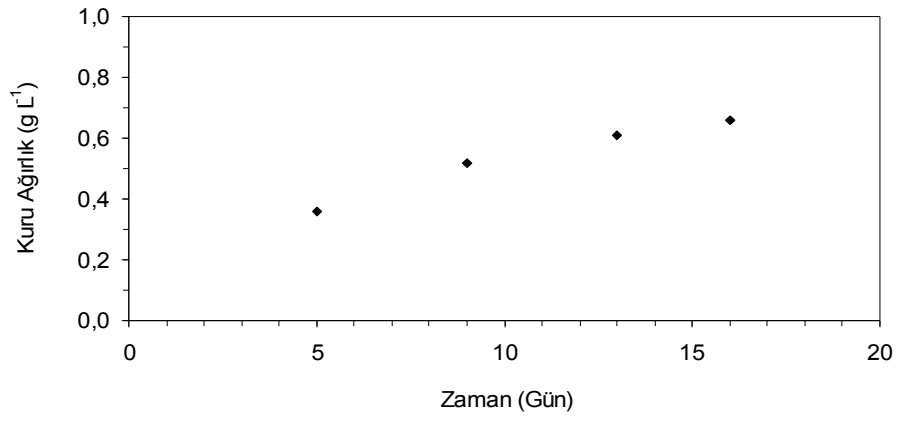
Şekil 38. 27,5 cm ışık yolu uzunluğunda absorbans değerinde meydana gelen değişimler

5, 10 ve 19 L hacme sahip kültürler için deneme sonunda yapılan toplam yağ analizlerinde sonuçlar sırasıyla kuru ağırlığın % 12,7, 11,2 ve 11,7'si oranında bulundu. Sonuç olarak, daha kısa ışık yolu uzunluğuna sahip olan ve daha hızlı büyüyen 5 L kültür diğerlerine göre daha yüksek yağ içeriğine sahip oldu.

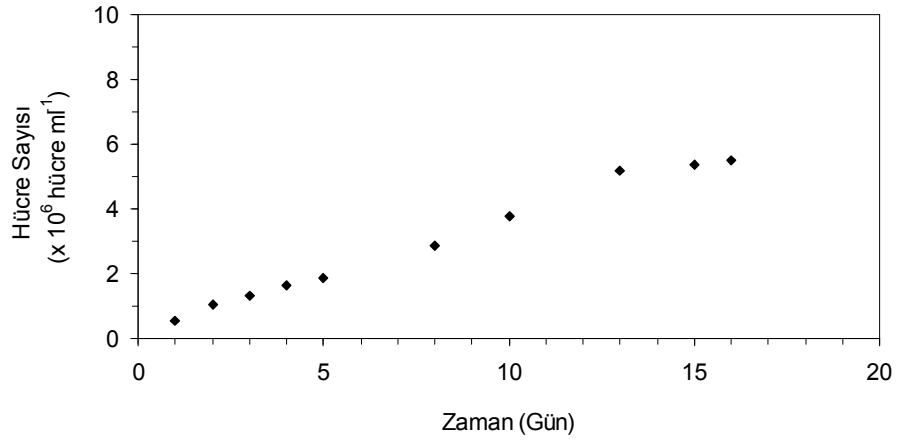
4.2. Büyük Ölçekli Çalışmalar

4.2.1. Polietilen Torbalarda Üretim

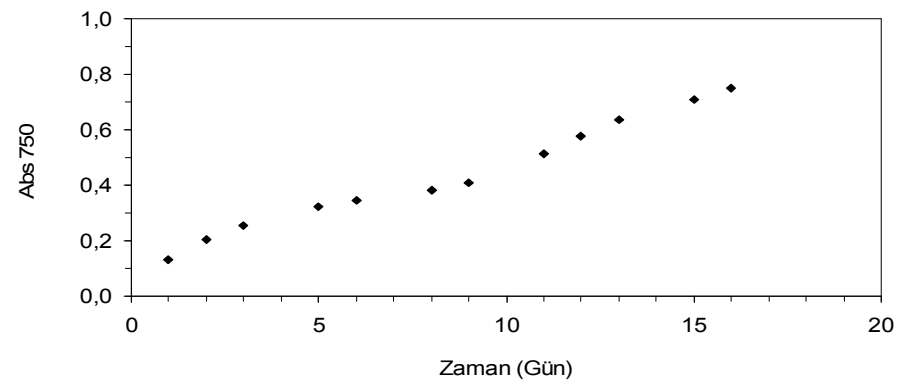
Laboratuvarda 20 L hacme sahip şeffaf polietilen (PE) torbalarda 16 gün süreyle gerçekleştirilen denemede 60 ve 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ 'lik iki farklı ışık şiddeti kullanıldı. 60 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde büyütülen kültürlerin kuru ağırlık, hücre sayısı ve absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler sırasıyla Şekil 39-41'de verildi. Deneme sonunda ulaşılan en yüksek kuru ağırlık değeri 16. günde 0,66 g L⁻¹ olarak bulundu. Hücre sayısı ise 13. güne kadar hızlı şekilde artarak deneme sonunda 5,5 x 10⁶ hücre mL⁻¹'ye ulaştı. Deneme sonunda ulaşılan en yüksek polisakkarit içeriği kuru ağırlığının % 35,45'i oranında bulundu. Deneme sonunda yapılan analizde toplam yağ miktarının kuru ağırlığın % 10,41'i oranında olduğu görüldü.



Şekil 39. PE torbalarda $60 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler

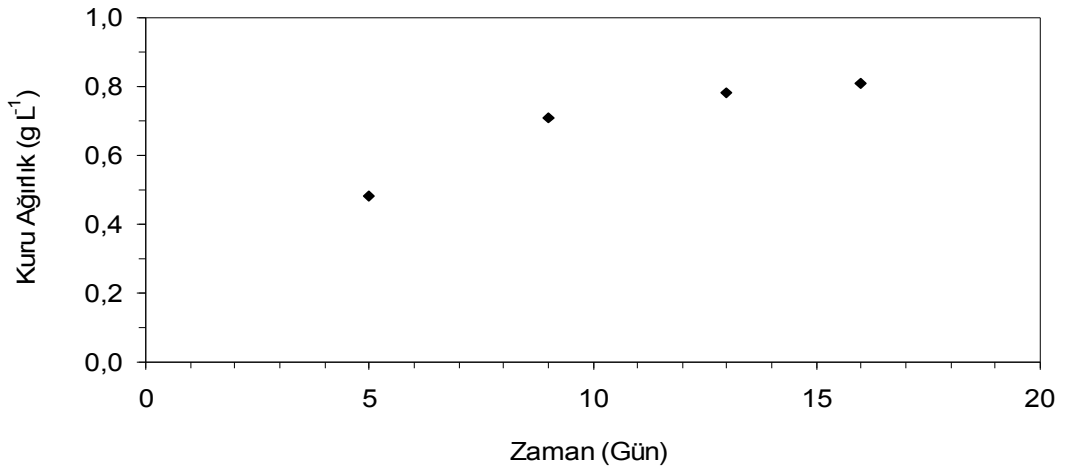


Şekil 40. PE torbalarda $60 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler

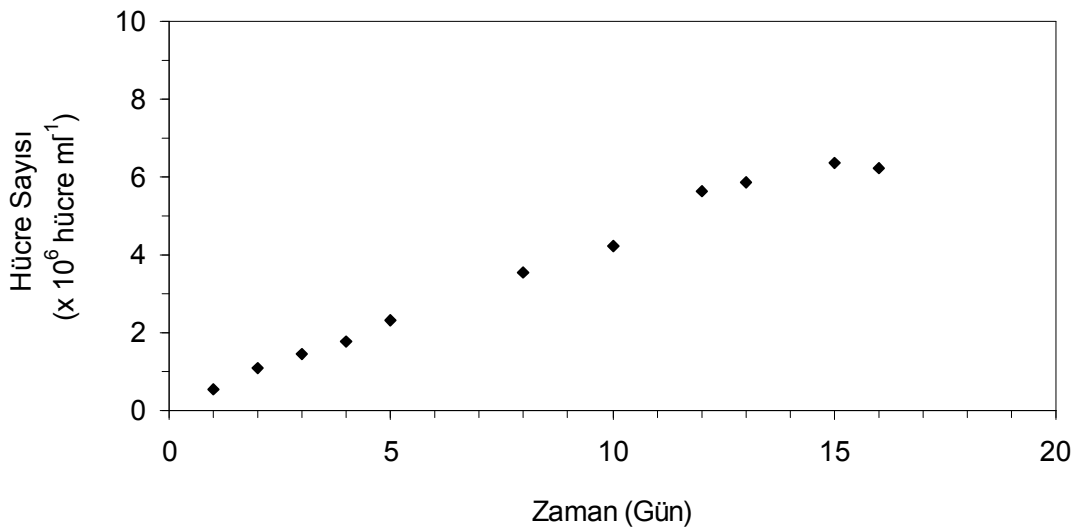


Şekil 41. PE torbalarda $60 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler

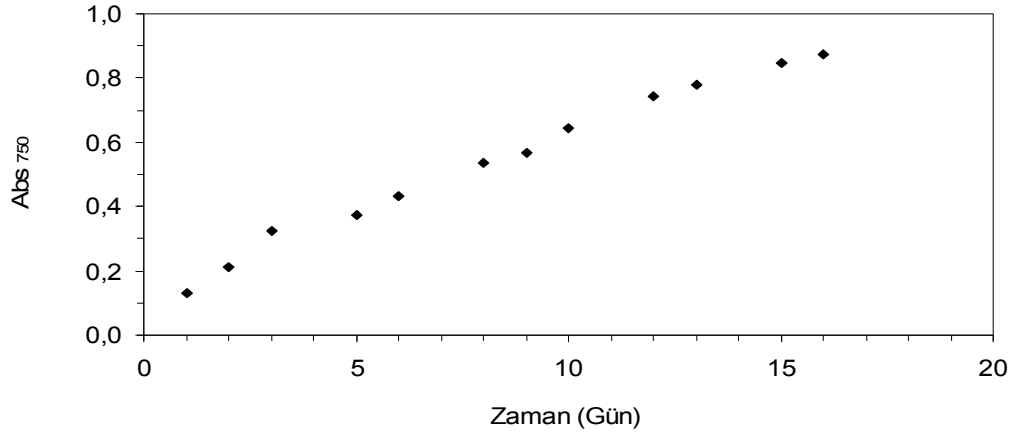
100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ sn}^{-1}$ ışık şiddetinde büyütülen kültürlerin kuru ağırlık, hücre sayısı ve absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 42-44'te verildi. Deneme sonunda ulaşılan en yüksek kuru ağırlık değeri 16. günde 0,81 g L^{-1} bulundu. En yüksek hücre sayısına ise 15. günde ulaşıldı ($6,4 \times 10^6$ hücre mL^{-1}). Deneme sonunda ulaşılan en yüksek polisakkarit içeriği kuru ağırlığının % 33,33'ü oranında bulundu. Denemenin 6. ve 16. günlerinde yapılan analizde toplam yağ miktarının kuru ağırlığın sırasıyla % 9,14 ve % 11,22'si oranında olduğu görüldü.



Şekil 42. PE torbalarda 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler



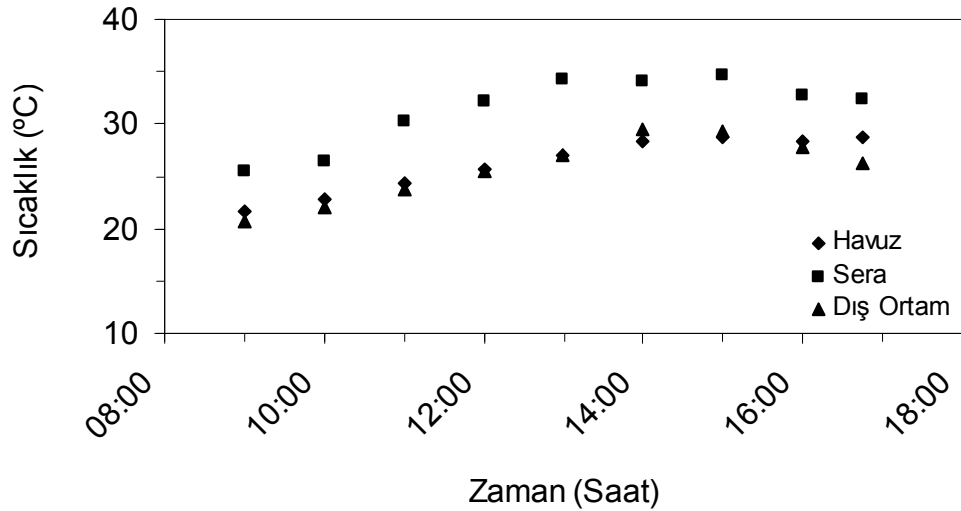
Şekil 43. PE torbalarda 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ sn}^{-1}$ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler



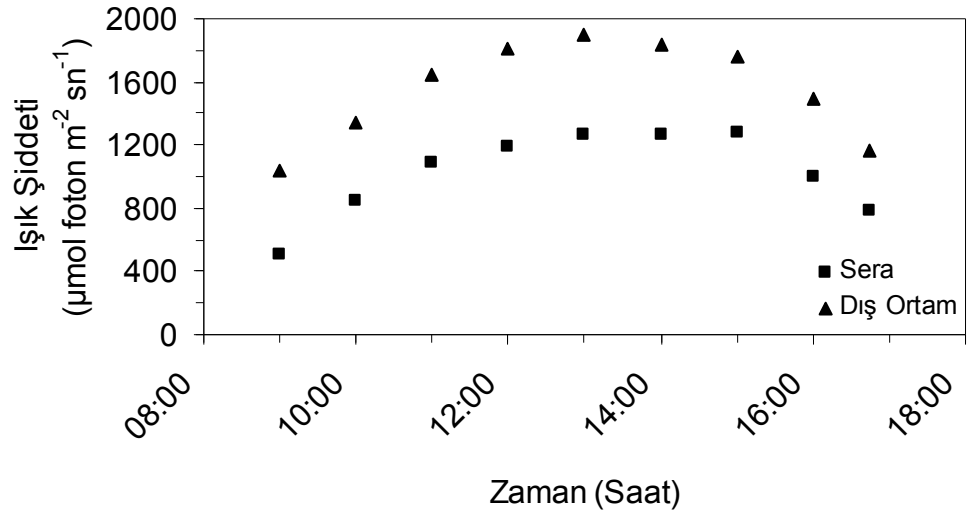
Şekil 44. PE torbalarda $100 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler

4.2.2. Havuzda Üretim

Son deneme ise PE torbalarda büyütülen hücrelerin, dış ortamda sera içinde bulunan ve bir çark yardımıyla karışımı sağlanan havuzlarda üretimini amaçladı. Yaklaşık 1000 L hacimde gerçekleştirilen denemede kültür derinliği 10 cm'de tutuldu. Deneme süresince havuz, sera ve dış ortamda gün içinde ölçülen ortalama sıcaklık ve ışık değerleri Şekil 45-46'da verildi. Buna göre, gün içinde havuzdaki en yüksek sıcaklık değeri saat 15:00'da yapılan ölçümlerde $29,0 \text{ }^\circ\text{C}$ bulundu. Sera ve dış ortamdaki en yüksek ışık şiddeti ise saat 13:00'daki ölçümde sırasıyla 1267 ve $1900 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ olarak bulundu.

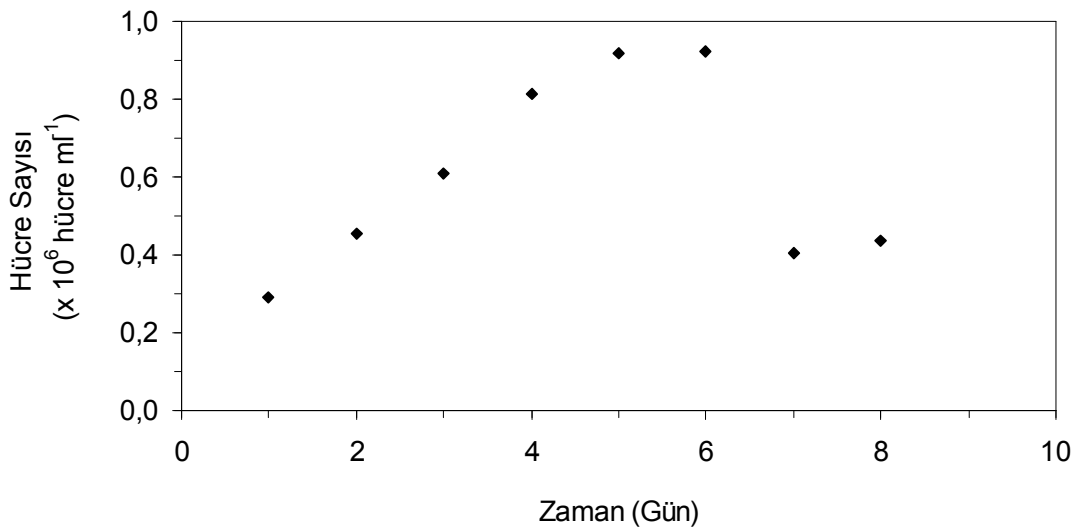


Şekil 45. Gün içinde havuz, sera ve dış ortamdaki ortalama sıcaklık değerleri

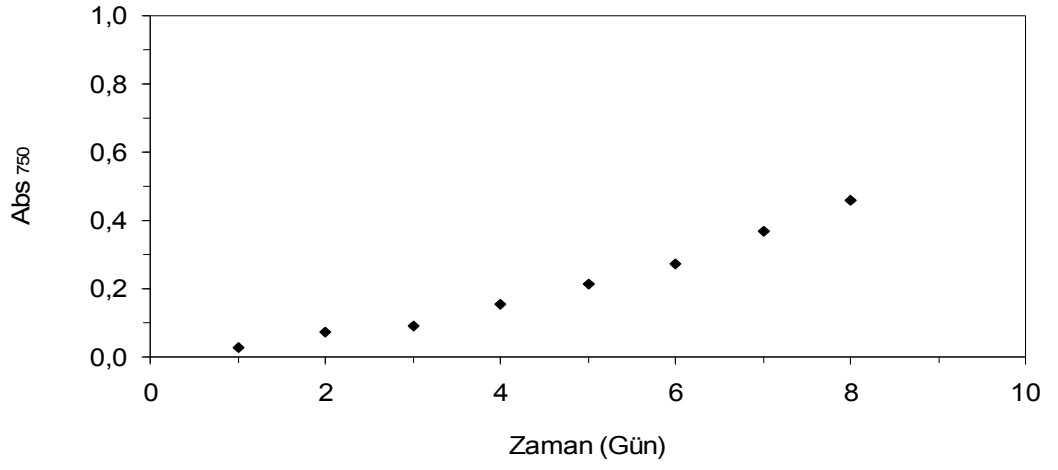


Şekil 46. Gün içinde sera ve dış ortamdaki ortalama ışık şiddetleri

Kültürdeki hücre sayısı ve absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 47-48'deki grafiklerde gösterildi. Hücre sayısının ilk 5 gün süresince artış gösterdiği izlendi. Dördüncü günde kültürün aktif şekilde büyüdüğü oksijen üretiminden anlaşılabilir (Şekil 49). Kültür 6. günde $0,9 \times 10^6$ hücre mL^{-1} sayıya ulaştı, fakat kültürün 5. gününde *Nannochloropsis* sp.'ye benzer bir tür ile karşılaşıldı. Takip eden günlerde *Porphyridium* hücreleri azalırken, diğer algal türün sayısı hızla artmaya başladı. Denemenin 5. gününde yapılan analizde toplam yağ miktarının kuru ağırlığın % 9,41'i oranında olduğu görüldü.



Şekil 47. Havuz kültüründe hücre sayısında meydana gelen değişimler



Şekil 48. Havuz kültüründe absorbands değerinde meydana gelen değişimler



Şekil 49. Dördüncü gün havuz kültürünün durumu

BÖLÜM 5

SONUÇ VE TARTIŞMA

Biyoteknoloji, son yıllarda insan sağlığından tarıma, gıda üretiminden enerji sektörüne kadar hemen her alanda doğrudan veya dolaylı şekilde varlığını hissettirmeye başlamıştır. Bu alanda mikroalgal biyoteknoloji de içeriğinde bulunan değerli metabolitler nedeniyle özel bir yer edinmiştir. Mikroalgler son yıllarda gerek zengin besin madde içerikleri gerekse ekolojik anlamda sahip oldukları önem nedeniyle üzerinde en çok çalışılan organizmalardan biri haline gelmiştir.

Laboratuvarda 1 L'lik şişelerde gerçekleştirilen denemelerde üç farklı sıcaklık arasında (18, 22 ve 26 °C) en hızlı büyümenin 22 °C'de gerçekleştiği görüldü. Golueke ve Oswald (1962)'in çalışmasında *Porphyridium cruentum* 'un büyümesinde optimum sıcaklığın 21-26 °C arasında olduğu görülmüştür. Lee ve Bazin (1991)'in çalışmasında ise optimum sıcaklık 23 °C bulunmuştur. Denemelerimizde bulduğumuz optimum sıcaklık olan 22 °C, Lee ve Bazin (1991)'in bulduğu sonuç ile örtüşmektedir. 22 °C'de ise büyüme 26 °C'ye göre daha yüksek idi.

Tüm gruplarda ışık şiddetinin 50 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ 'den 150 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ 'ye çıkması üretimi artırmıştır. Işık şiddetinin artırılması sonucunda büyüme üzerinde herhangi bir olumsuzluk yaşanmadığı için, 10 cm çapa sahip üretim sistemlerinde daha yüksek biyomas üretimi amacıyla daha yüksek ışık şiddetlerinin kullanımı mümkün görünmektedir. Üretimi artırmanın diğer bir yolu da ışık yolu uzunluğunu daraltmaktır. Muller-Feuga ve diğ. (2004) tarafından 100 L hacme sahip 6 cm çaptaki silindirik fotobiyorektör ile kesikli kültür şeklinde gerçekleştirilen denemede 20. gün civarında maksimum hücre sayısına ulaşıldı (60×10^9 hücre L^{-1}). Kuru ağırlık miktarı ise yaklaşık olarak $2,5 \text{ g L}^{-1}$ bulundu. Benzer şekilde, farklı ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel biyoreaktörlerde gerçekleştirilen denemelerde de en düşük ışık yolu uzunluğunda (1,3 cm) en yüksek hücre sayısı ve polisakkarit miktarına ulaşıldı (Singh ve diğ., 2000). Ayrıca, hücre yoğunluğunun ışık şiddeti ile kuvvetle ilişkili olduğu gösterildi. Bu sonuç, denemelerimizde kullanılan 10 cm

çaptaki silindirik şişelerden daha düşük çaptaki kültür sistemlerinin biyomas üretimini artıracakını göstermektedir.

Farklı ışık yolu uzunluklarının büyüme üzerine etkilerinin araştırıldığı denemede 5, 10 ve 19 L hacme sahip şeffaf plastik bidonlar kullanıldı ve bidonların ışık yolu uzunlukları sırasıyla 17,5, 23,0 ve 27,5 cm ölçüldü. Buna göre en kısa ışık yolu uzunluğuna sahip 5 L'lik kültürün büyümesinin de en hızlı olduğu görüldü ($4,2 \times 10^6$ hücre mL^{-1}). 10 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam şişelerdeki üretimin ise 5 L'lik bidondan daha yüksek olduğu görüldü ($23,9 \times 10^6$ hücre mL^{-1}). Dolayısıyla daha yüksek biyomas üretimi için daha dar ışık yolu uzunluklarının kullanılması gerekmektedir.

You ve Barnett (2004)'in çalışmasında ise 20 günün sonunda maksimum büyüme hızı $70 \mu mol$ foton $m^{-2} sn^{-1}$ ışık şiddetinde ulaşıldı ($4,37 \times 10^9$ hücre L^{-1}). Sonuç olarak, ışık şiddetinin $70 \mu mol$ 'e artmasıyla hücre sayısının daha çabuk arttığı ve durgunluk safhasına daha erken gelindiği, dolayısıyla polisakkarit üretiminin daha hızlı olduğu belirtildi. Ayrıca ışık şiddetinin artmasıyla pigment içeriğinin azaldığı, hücre hacminin ise arttığı belirtildi. Benzer şekilde, 20 L polietilen torbalarda gerçekleştirilen çalışmada denemenin ilk günlerinde kültür renginin kırmızıdan turuncuya döndüğü, fakat zamanla rengin tekrar düzeldiği izlendi. Havuz denemesinde de yüksek ışık şiddeti nedeniyle benzer bir durumla karşılaşıldı. $22^\circ C$ 'de gerçekleştirilen denememizde $150 \mu mol$ ışık şiddetinde hücre sayısının $100 \mu mol$ 'e göre daha yüksek olduğu görüldü ($23,9 \times 10^6$ hücre mL^{-1}). Hem kullandığımız ışık şiddeti hem de ulaşılan hücre sayısı You ve Barnett'in 2004'te yapmış olduğu çalışmada ulaşılan değerden çok daha yüksek idi. Bu araştırmacılar, $0,67$ ve $1,00 \times 10^9$ hücre L^{-1} gibi iki farklı başlangıç hücre sayısının büyüme hızı üzerinde önemli etkisinin olmadığını belirtmektedir. Fakat denememizde, özellikle hücrelerin yüksek ışık şiddetlerine maruz kaldığı denemelerde başlangıç yoğunluğunun düşük tutulması, kültür renginin açılmasına neden oldu.

Porphyridium hücrelerinin polisakkarit biriktirme hızının ise genel olarak hücrelerin büyümesine paralel olarak sıcaklık ve artan ışık şiddeti ile arttığı görüldü.

Polisakkarit üretimi 22 °C’de hücrelerde en yüksek değere ulaştı. 50 ve 100 µmol foton m⁻² sn⁻¹’de sırasıyla kuru ağırlığın % 44,41 ± 0,83 ve % 43,90 ± 0,68’i oranındaydı. Bu değerler 26 °C için hafif düşme gösterdi. Işık şiddeti 150 µmol foton m⁻² sn⁻¹’ye yükseldiğinde ise tüm gruplarda polisakkarit üretiminin düştüğü görüldü. Ayrıca, ışık ve sıcaklık arttıkça, dolayısıyla büyüme hızı arttıkça hücreler en yüksek polisakkarit içeriğine daha erken sürede ulaştı.

Denemelerde elde edilen polisakkarit miktarları genel olarak Becker (1994)’in çalışmasında belirtilen değerler içerisinde yer almıştır. Geresh ve diğ. (2002)’nin bulduğu % 56 oranının ise altında çıkmıştır. Reboloso Fuentes ve diğ. (1999)’nin tüp fotobiyoreaktörlerde dış ortamda gerçekleştirdikleri çalışmada ise ışık şiddetinin artması sonucu hücrelerden salgılanan polisakkarit miktarının da arttığı sonucuna varılmış olup, gerçekleştirdiğimiz çalışmada hücre polisakkariti için tam tersi bir sonuç bulunmuştur. Bu çalışmada, hücre polisakkariti artan ışık şiddeti ile azalma gösterdi.

Laboratuvarda 1 L hacimli cam şişelerde gerçekleştirilen denemelerde, sadece biyomasta biriktirilen polisakkarit miktarı yanında kültürde bulunan toplam polisakkarit miktarına da bakıldı. Fakat bu işlem için yüksek hacimde örnek gerektiği için polisakkarit miktarının yüksek olduğu 16. günden sonra bakılabildi. Kültürdeki toplam polisakkarit miktarına bakıldığında optimum sıcaklık olarak bulunan 22 ve 26 °C’lerde elde edilen polisakkarit miktarının yükselen ışık şiddeti ile arttığı görüldü. Sonuç olarak, ışık şiddetinin artırılması, hücre polisakkaritinin kültür ortamına geçişini hızlandırmıştır. Bu nedenle de 22 ve 26 °C sıcaklıklardaki en yüksek ışık şiddeti olan 150 µmol’de hücrelerdeki polisakkarit miktarı, 50 ve 100 µmol ışık şiddetlerine göre daha düşük bulundu. Bu durumda, artan ışık şiddetinin hücre dışına polisakkarit salgılanmasını artırdığını söyleyen Reboloso Fuentes ve diğ. (1999) ile benzer sonuca ulaşılmıştır. Csogör ve diğ. (2001) ise ışık şiddetinin polisakkarit birikimi üzerine etkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak, tüm kültürde bulunan polisakkarit miktarının sadece hücre üzerinde biriken miktardan % 50’ye yakın bir oranda daha yüksek olduğu görüldü. Ayrıca, yapılan işlem

sonrasında polisakkarit kültürden çok rahat şekilde ortamdan giderildi. Bu nedenle, polisakkarit üretimi amacıyla tüm kültürün kullanılması avantajlı olacaktır.

Dış ortamda büyük ölçeklerde havuzlarda gerçekleştirilen denemede ise ilk 5 gün hücreler artmasına rağmen, sonraki günlerde azalma meydana geldi. Özellikle mikroskopta 6. gün yapılan incelemelerde kültürde bulunan *Nannochloropsis* sp.'ye benzer hücreler dikkat çekti. Bu hücreler sonraki günlerde, *Porphyridium* hücrelerini baskılayarak hızla artmaya başladı ve kültürde tamamen baskın hale geldi. Hücre sayısının (Şekil 47) 6. günden sonra düşmeye başlarken, absorbans değerinin (Şekil 48) sürekli artmasının sebebi bu yabancı hücrelerin sayısının artmasıydı. Bu durumun en önemli sebebinin, havuz kültürüne düşük hücre yoğunluğu ile başlanması ve kültür ortamının çeşme suyu ile hazırlanması olabileceği düşünüldü. Havuz kültür ortamının hazırlanması için gerekli 1000 L suyun saf su ile hazırlanması güç olacağı için kültür ortamı şebeke suyu ile hazırlandı. Kültüre düşük hücre yoğunluğu ile başlamanın getireceği en önemli risk, yüksek şiddetteki güneş ışığı nedeniyle hücrelerde fotosentezin inhibe olmasıdır. Bu nedenle sonraki çalışmalarda daha yüksek biyomas yoğunlukları ile başlanması yararlı olacaktır.

Havuz denemelerinde dikkati çeken diğer bir önemli husus da kültür renginin pembe – kırmızıdan turuncuya doğru dönmesiydi. Mikroskopta yapılan incelemede de kırmızı renkten sorumlu fikoeritrin pigmentinin kapladığı alanın küçüldüğü görüldü. Benzer bir durum, laboratuvarında PE torbalar ile düşük yoğunlukta başlanan denemelerde de göze çarptı. Bu nedenle, eğer kültüre düşük hücre yoğunluklarıyla başlanacaksa ışık şiddetinin de düşük tutulması ve hücre artışıyla beraber tedrici olarak artırılması yararlı olacaktır. Diğer bir çözüm ise yukarıda da belirtildiği üzere daha yüksek hücre yoğunluklarıyla başlamaktır.

Özellikle diğer gruplara göre daha yüksek hücre yoğunluklarına ulaşılan 1 L şişelerde ve polietilen torbalarda gerçekleştirilen denemelerde sırasıyla 16 ve 8. günden itibaren hücre sayımlarında, hücrelerin kümeleşmesi nedeniyle zorluk yaşandı. Kültürlere verilen hava şiddeti şişelerde 1,5 L dak⁻¹ (lpm), torbalarda ise 4 L dak⁻¹ olacak şekilde ayarlandı. Hücrelerde kümeleşmeye, hücrelerin polisakkarit

birikimini artırması veya uygulanan hava şiddetinin zaman içinde yetersiz kalması faktörlerinin sebep olabileceği düşünüldü.

Mikroalgal biyoteknoloji kapsamında ilk çalışmalar genelde yüksek protein içeriğine sahip ve diğer türlere nispeten daha kolay üretilen *Chlorella* ve *Spirulina* gibi organizmalar üzerine gerçekleştirilmiştir. Bu tip mikroalgal ürünlerin özellikle 1980'li yıllarda besin desteği olarak insanlar tarafından talep görmesi üzerine, farklı türler de üretime alınmaya başlanmıştır. Hücre içinde biriktirmiş olduğu yağ asitleri (ARA ve EPA), pigment maddeleri (fikoeritrin) ve sülfatlı polisakkaritler nedeniyle *Porphyridium cruentum* mikroalgal biyoteknoloji alanında önemli türlerden biridir. Bu türün üretimi üzerine ülkemizde sınırlı sayıda araştırma yapılmış olup (Durmaz ve diğ., 2007), bu çalışma ile ilk defa hücrelerin polisakkarit biriktirme özellikleri ile polietilen torba ve açık havuzlarda üretimi gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, büyük ölçeklerde üretim anlamında sadece *Spirulina* ve *Chlorella* gibi üretimi kolay türler ile sınırlı kalmamak gerekmektedir. Çalışma konusu çok geniş olan bu sektörde, gerek yurt dışında büyük ölçeklerde üretimi başarıyla gerçekleştirilmekte olan ekonomik anlamda değerli türlerin çalışılması (Göksan, 2003, 2007; Durmaz ve Gökpınar, 2006; Ak, 2008), gerekse keşfedilmeyi bekleyen potansiyel türlerin ortaya çıkarılması, algal biyoteknoloji konusunun ülkemizde çok daha hızlı gelişmesine yardımcı olacaktır.

BÖLÜM 6

KAYNAKLAR

- Ak İ., 2008. Türkiye’de farklı tuz göllerinden ve tuzlalardan izole edilen *Dunaliella viridis*’te büyüme koşullarının ve karotenoid birikiminin araştırılması. (Doktora Tezi) Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Arad (Malis) S., 1988. Production of sulfate polysaccharide from red unicellular algae. In: Algal Biotechnology, Stadler, T., Mollion, J., Verdus, M.C., Karamanos, Y., Morvan, H., Christiansen, D. (Eds). *Elsevier Applied Science*, London, pp. 65-87.
- Arad (Malis) S., 1999. Polysaccharides of red microalgae. In: Cohen, Z. (ed.), *Chemicals from Microalgae. Taylor and Francis*, London, pp. 282–291.
- Arad S., Adda, M., Cohen, E., 1985. The potential production of sulphated polysaccharides from *Porphyridium*. *Plant and Soil*, 89, 117-127.
- Arad S., Rapoport, L., Moshkovich A., Moppes, D. van, Karpasas, M., Golan, R., Golan, Y., 2006. Superior Biolubricant from a Species of Red Microalga. *Langmuir*, 22 (17): 7313-7317.
- Bachofen R., 1982. The production of hidrocarbons by *Botryococcus braunii* *Experientia* 38: 47.
- Becker E.D., 1986. Nutritional properties of microalgae: potential and constrains. In : *Handbook of Microalgal Mass Culture*, Richmond, A., (Ed). CRC Pres, Boca Rato, FL. pp. 339-420.
- Becker E.W., 1994. Microalgae: biotechnology and microbiology. In: *Microalgae: Biotechnology and microbiology*. Baddiley, J. et al. (Eds.), Cambridge Univ. Press, Cambridge, New York., pp. 186-187.
- Borowitzka M. A., 1988. Vitamin and fine Chemicals from microalgae. In: *Microalgal Biotechnology*, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 153-196.
- Cirik S., 1989. Zengin Bir Bitkisel Gıda *Spirulina*. *Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi* (22) 257: 19-20.
- Cohen E., Arad, S. 1989. A closed system for outdoor cultivation of *Porphyridium*. *Biomass* 18: 59–67.

- Cohen Z., 1986. Products from microalgae. In: Handbook of Microalgal Mass Culture, Richmond, A. (Ed.), *CRC Pres*, Boca Raton, Fla., p.421.
- Cohen Z., Vonshak, A., Boussiba S., Richmond, A., 1988. The effect of temperature and cell concentration on the fatty acid composition of outdoor cultures of *Porphyridium cruentum*. In: Stadler T, Mollion J, Verduis M-C, Karamanos Y, Morvan H, Christiaen D (eds.), *Algal Biotechnology. Elsevier Applied Science*, London, pp. 421–430.
- Csögör Z., Kiessling, B., Perner I., Fleck P., Posten, C., 2001. Growth and product formation of *Porphyridium purpureum*. *J. Appl. Phycol.* 13: 317-324.
- Dubois M., Gilles A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-355.
- Durmaz Y., Gökpınar Ş., 2006. *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco (Chlorophyceae) Büyümesi Üzerine Tuz Derişimlerinin Etkileri. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi* 23 (1-2): 121-124.
- Durmaz Y., Monteiro M., Bandarra N., Gökpınar, S., Işık O., 2007. The effect of low temperature on fatty acid composition and tocopherols of the red microalga, *Porphyridium cruentum*. *J. Appl. Phycol.* 19: 223-227.
- Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.
- Friedman O., Dubinsky Z., Arad (Malis) S. 1991. Effect of light intensity on growth and polysaccharide production in red and blue-green Rhodophyta unicells. *Bioresourc. Technol.* 38:5
- Geresh S., Adin I., Yarmolinsky E., Karpasas M., 2002. Characterization of the extracellular polysaccharide of *Porphyridium* sp.: molecular weight determination and rheological properties. *Carbohydrate Polimers* 50: 183-189.
- Ginzburg B.Z., 1993. Liquid fuel (oil) from halophilic algae: a renewable source of non-polluting energy. *Renew. Energy* 3, 249–252.
- Golueke C.G., Oswald, W.J., 1962. The mass culture of *Porphyridium cruentum*. *Applied Microbiology* 10: 102-107.
- Gökpınar Ş., 1980, Deniz diyatomu *Phaeodactylum tricorutum* BOHLIN kültürü üzerine gözlemler, TUBİTAK VII. Bilim Kong., 827-840, Kuşadası, İZMİR.

- Gökpınar Ş., 1982, Observations on the culture of a marine diatom *Phaeodactylum tricorutum* in different nutrient and salinity concentrations, *E.Ü. Fac. of S.Ü., Jour.Ser.B.*, 6: 77-86.
- Göksan T., 2003. Haematococcus pluvialis Flotow'un (Chlorophyceae) laboratuvar ve dış ortam koşullarında kültürü sırasında pigment kompozisyonu ve fotokimyasal parametrelerinde meydana gelen değişimler. (Doktora Tezi) Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova, İzmir.
- Göksan T., Zekeriyaoğlu A., Ak İ., 2007. The Growth of *Spirulina platensis* in Different Culture Systems Under Greenhouse Condition. *Turkish Journal of Biology*, 31 (1), 47-52.
- Gudin C., 1988. Why bother with microalgae? In: Algal Biotechnology, Stadler, T., Mollion, J., Verdus, M. C., Karamanos, Y., Morvan, H., Christiansen, D. (Eds.), *Elsevier Appl. Science Publications*, pp.33-40.
- Gudin C., Chaumont D., 1991. Cell fragility – the key problem of micro-algae mass production in closed photobioreactors. *Biores. Technol.* 38: 145–155.
- Henrickson R., 1989. Earth food Spirulina. Ronore Enterprises Inc., Laguna Beach, CA.
- Henze M., Harremoës P., Jansen J.I.C., Arvin E., 2002. Wastewater treatment: Biological and chemical processes. *Springer Verlag*, Berlin Heidelberg.
- Huang J., Chen B., You W., 2005. Studies on separation of extracellular polysaccharide of *Porphyridium cruentum* and its anti-HBV in vitro. *Chin J Mar Drugs* 24 (5): 18-21
- Huheihel M., Ishanu V., Tal J., Arad S., 2001. Antiviral effect of red microalgal polysaccharide on *Herpes simplex* and *Varicella zoster* viruses. *J. Appl. Phycol.* 13: 127-134.
- Huheihel M., Ishanu V., Tal J., Arad S., 2002. Activity of *Porphyridium cruentum* sp. Polysaccharide against *Herpes simplex* viruses in vitro and in vivo. *J. Biochem. Biophys. Methods* 50: 189-200.
- Jones R.E., Speer L., Kury W., 1963. Studies on the growth of the red alga *Porphyridium cruentum*. *Physiologia Plantarum*. 16: 638-643.
- Koletzko B., Braun M., 1991. Arachidonic Acid and Early Human Growth: Is There a Relation? *Ann. Nutr. Metabol.* 35, 128–131.

- Lee E.T.Y., Bazin M.J., 1991. Environmental factors influencing photosynthetic efficiency of the micro red alga *Porphyridium cruentum* (Agardh) Nägeli in light-limited cultures. *New Phytol.* 118: 513-519.
- Makrides M., Neumann M., Simmer K., Pater J., Gibson R., 1995. Are Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids Essential in Infancy? *Lancet* 345, 1463–1468.
- Muller-Feuga A., Le Gue'des R., Le De'an L., 2004. Cell Weight Kinetics Simulation in Chemostat and Batch Culture of the Rhodophyte *Porphyridium cruentum*. *Biotechnology and Bioengineering* 88: 759-766.
- Ramus J., 1972. The production of extracellular polysaccharide by the unicellular red alga *Porphyridium aerugineum*. *J. Phycol.*, 8, 97-111
- Ramus J., 1981. The capture and transduction of light energy. In: *The Biology of Seaweeds*. Lobban, C.S., Wynne, M.J. (Eds), *Blackwell Scientific Publications, Boston*, pp. 458-492.
- Ramus J., 1986. Rhodophytes unicells: biopolymer physiology and production. In; *Algal Biomass Technology*, Barclay W.R., McIntosh, R.P. (Eds), pp. 51-55. *J. Cramer*, Berlin.
- Reboloso Fuentes M.M., Acien Fernandez G.G., Sanchez Perez J.A., Guil Guerrero J.L., 2000. Biomass Nutrient Profiles of the microalga *Porphyridium cruentum*. *Food Chemistry* 70: 345-353.
- Reboloso Fuentes M.M., Garcia Sanchez J.L., Fernandez Sevilla J.M., Acien Fernandez F.G., Sanchez Perez J.A., Molina Grima E., 1999. Outdoor continuous culture of *Porphyridium cruentum* in a tubular photobioreactor: quantitative analysis of the daily cyclic variation of culture parameters. *Journal of Biotechnology* 70: 271–288.
- Singh S., Arad S., Richmond A., 2000. Extracellular polysaccharides production in outdoor mass cultures of *Porphyridium* sp. in flat plate glass reactors. *J. Appl. Phycol.* 12; 269-275.
- Sivan A., Arad (Malis) S., 1998. Intraspecific transfer of herbicide resistance in the red microalga *Porphyridium* sp. via protoplast fusion. *J. Phycology* 34: 706-711.
- Talyshinsky M.M., Souprun Y.Y., Huleihel M.M., 2002. Anti-viral activity of red microalgal polysaccharides against retroviruses. *Cancer Cell Int.* 2: 8.

- Unrau A.M., 1964. Carbohydrates of centrosema seed. The constitution of an arabinogalactan. *Canadian Journal of Chemistry* 42: 916-925.
- Vonshak A., 1988. *Porphyridium*. In: Microalgal Biotechnology, Borowitzka M.A., Borowitzka L.J. (Eds). *Cambridge University Pres.* pp: 122-134.
- Wang J., Chen B., Rao X., Huang J., Li M., 2007. Optimization of culturing conditions of *Porphridium cruentum* using uniform desing. *Word J. Microbiol Biotechnol.* 23: 1345-1350.
- Watanabe I., De Data S.K., Roger P.A., 1987. Nitrogen cycling in wetland rice soils. In : Advances in nitrogen cycling in agricultural ecosystems. Wilson, J.R. (Ed.), pp. 239-256. Proc. Symposium on Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Ecosystems, Brisbane, Australia, C.A.B. International, UK.
- Xue C.H., Fang Y., Lin H., Chen L., Li Z.J., Deng D., Lu C.X., 2000. Chemical characters and antioxidant properties of sulfated polysaccharides from *Laminaria joponica*. *J. Appl. Phycol.* 13: 1-5.
- You T., Barnett S.M., 2004. Effect of light quality on production of extracellular polysaccharides and growth rate of *Porphyridium cruentum*. *Biochemical Engineering Journal.* 19: 251-258.
- Zhao X., Xue C.H., LI Z.J., Cai Y.P., Liu H.Y., OI H.T., 2004. Antioxidant and hepatoprotective activities of low molecular weight sulfated polysaccharides from *Laminaria joponica*. *J. Appl. Phycol.* 16: 111-115.

EKLER

TABLO DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1. ASW ortamında bulunan besin tuzları.....	7
--	---

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1. <i>Porphyridium cruentum</i> Hücresi.....	3
Şekil 2. Laboratuvarında gerçekleştirilen küçük ölçekli deneme düzeneği.....	8
Şekil 3. Laboratuvarında gerçekleştirilen PE torba kültürleri.....	9
Şekil 4. Dış ortamda gerçekleştirilen havuz kültürleri.....	10
Şekil 5. Kültürden elde edilen polisakkarit.....	12
Şekil 6. 18 °C’de 50 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler.....	14
Şekil 7. 18 °C’de 50 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	15
Şekil 8. 18 °C’de 50 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	15
Şekil 9. 18 °C’de 100 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler.....	16
Şekil 10. 18 °C’de 100 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	16
Şekil 11. 18 °C’de 100 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	16
Şekil 12. 18 °C’de 150 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler.....	17
Şekil 13. 18 °C’de 150 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	17
Şekil 14. 18 °C’de 150 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	18
Şekil 15. 22 °C’de 50 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler.....	18
Şekil 16. 22 °C’de 50 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	19
Şekil 17. 22 °C’de 50 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	19

Şekil 18. 22 °C’de 100 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler.....	20
Şekil 19. 22 °C’de 100 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	20
Şekil 20. 22 °C’de 100 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	20
Şekil 21. 22 °C’de 150 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler.....	21
Şekil 22. 22 °C’de 150 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	21
Şekil 23. 22 °C’de 150 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	22
Şekil 24. 26 °C’de 50 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler.....	22
Şekil 25. 26 °C’de 50 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	23
Şekil 26. 26 °C’de 50 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	23
Şekil 27. 26 °C’de 100 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler.....	24
Şekil 28. 26 °C’de 100 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	24
Şekil 29. 26 °C’de 100 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	24
Şekil 30. 26 °C’de 150 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler.....	25
Şekil 31. 26 °C’de 150 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	25
Şekil 32. 26 °C’de 150 µmol foton m ⁻² sn ⁻¹ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	26
Şekil 33. 17,5 cm ışık yolu uzunluğunda hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	26

Şekil 34. 17,5 cm ışık yolu uzunluğunda absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	27
Şekil 35. 23,0 cm ışık yolu uzunluğunda hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	27
Şekil 36. 23,0 cm ışık yolu uzunluğunda absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	28
Şekil 37. 27,5 cm ışık yolu uzunluğunda hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	28
Şekil 38. 27,5 cm ışık yolu uzunluğunda absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	29
Şekil 39. PE torbalarda 60 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler.....	30
Şekil 40. PE torbalarda 60 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ sn}^{-1}$ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	30
Şekil 41. PE torbalarda 60 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ sn}^{-1}$ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	30
Şekil 42. PE torbalarda 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ sn}^{-1}$ ışık şiddetinde kuru ağırlık değerinde meydana gelen değişimler.....	31
Şekil 43. PE torbalarda 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ sn}^{-1}$ ışık şiddetinde hücre sayısında meydana gelen değişimler.....	31
Şekil 44. PE torbalarda 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ sn}^{-1}$ ışık şiddetinde absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....	32
Şekil 45. Gün içinde havuz, sera ve dış ortamdaki ortalama sıcaklık değerleri...32	
Şekil 46. Gün içinde sera ve dış ortamdaki ortalama ışık şiddetleri.....33	
Şekil 47. Havuz kültüründe hücre sayısında meydana gelen değişimler.....33	
Şekil 48. Havuz kültüründe absorbans değerinde meydana gelen değişimler.....34	
Şekil 49. Dördüncü gün havuz kültürünün durumu.....34	

YAŞAM ÖYKÜŐÜ

Adı Soyadı: Bircan ÖZBAŞ

Doęum Yeri ve Yılı: Aydın-1981

Eęitim Durumu

1987–1992: Atatürk İlköęretim Okulu

1992-1995: Efeler Orta Okulu

1995–1998: Efeler Lisesi

2000–2004: anakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi
(Lisans)

2005- : anakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi (Yüksek
Lisans)