



T.C.

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

SELENYUM METALİNİN FARKLI IŞIK ŞİDDETLERİNDE *SPİRULİNA
PLATENSİS* (CYANOPHYTA)'İN GELİŞİMİNE ETKİSİ

TAHSİN TOKER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANTAKYA

HAZİRAN-2007

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
ÖNSÖZ.....	III
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
3. METERYAL VE YÖNTEM.....	11
3.1. Materyal.....	11
3.1.1. <i>Spirulina platensis</i>	11
3.1.2. Araştırmada Kullanılan Kimyasallar.....	11
3.1.3. Araştırmada Kullanılan Ekipmanlar.....	13
3.1.3.1. pH Metre.....	13
3.1.3.2. Terazî.....	13
3.1.3.3. Flament Sayım Kamerası.....	13
3.1.3.4. Spektrofotometre.....	13
3.1.3.5. Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES).....	13
3.1.3.6. Filtrasyon Malzemeler.....	13
3.1.3.7. Etüv ve Otoklav.....	14
3.1.3.8. Santrifüj.....	14
3.1.3.9. Mikroskop.....	14
3.1.3.10. Işık-ölçer.....	14
3.1.3.11. Gaz Maskesi.....	14
3.1.3.12. İklimlendirme Cihazı.....	15
3.1.3.13. Kompresor.....	15
3.1.3.14. Deney Setleri.....	15

3.2. Yöntem.....	15
3.2.1. Araştırmada Kullanılan Kapların Temizliği ve Sterilizasyonu.....	15
3.2.2. <i>Spirulina platensis</i> Aşısı Kültürleri	16
3.2.3. Efektif Doz Denemesi.....	16
3.2.4. Araştırmanın Kurulması ve Yürütülmesi.....	17
3.2.5. Araştırma Süresince Takip Edilen Parametreler.....	18
3.2.5.1. Yaş (g/L) ve Kuru Madde (%) Tayini	18
3.2.5.2. Filament Sayımı (filament/ml)	19
3.2.5.3. Klorofil-a Tayini (µg/L).....	19
3.2.5.4. pH Ölçümleri	20
3.2.5.5. <i>Spirulina platensis</i> 'deki Selenyum Metal Birikiminin Tayini...20	
3.2.5.6. Verilerin Değerlendirilmesi.....	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	22
4.1. Bulgular.....	22
4.1.1. İki Farklı Işık Şiddetinde (1500-3000 lux), Se (600 mg/L) içeren Farklı Başlangıç pH Değerlerindeki Kültür Ortamlarının Büyüme Parametrelerine Etkileri.....	22
4.1.1.1. Yaş Madde (g/L).....	22
4.1.1.2. Kuru Madde (%).....	24
4.1.1.3. Filament Sayısı (filament/ml).....	26
4.1.1.4. Büyüme Hızı (bölünme/gün).....	28
4.1.1.5. Klorofil-a (µg/L).....	30
4.1.1.6. pH.....	32
4.1.2. İki Farklı Işık Şiddetinde (1500-3000 lux), Se (600 mg/L) içeren Farklı Başlangıç pH Değerlerindeki Kültür Ortamlarında <i>S. platensis</i> 'de Selenyum Metali Birikimi (mg/g).....	34
4.2. Tartışma.....	36
4.2.1. Yaş Madde (g/L).....	36
4.2.2. Kuru Madde (%).....	37
4.2.3. Filament Sayısı (filament/ml).....	38
4.2.4. Büyüme Hızı (bölünme/gün).....	38
4.2.5. Klorofil-a (µg/L).....	39

4.2.6. pH.....	39
4.1.7. Selenyum Metali Birikim Miktarı (mg/g)	40
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	42
KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	49

Mustafa Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

Doç. Dr. Ayşe Bahar YILMAZ danışmanlığında, Tahsin TOKER tarafından hazırlanan bu çalışma 14/06/2007 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından, Su Ürünleri Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :	Doç. Dr. Ayşe Bahar YILMAZ	İmza.....
Üye :	Yrd. Doç. Dr. Selin SAYIN	İmza.....
Üye :	Yrd. Doç. Dr. Nuray ERGÜN	İmza.....

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Kod No:

İmza
14 / 06 /2007
Prof. Dr. Necat AĞCA
Enstitü Müdürü

Bu çalışma M.K.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca desteklenmiştir.

Proje No: 06 M 1701

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir

ÖZET**SELENYUM METALİNİN FARKLI IŞIK ŞİDDETLERİNDE *SPİRULİNA PLATENSİS* (CYANOPHYTA)'İN GELİŞİMİNE ETKİSİ**

Mavi-yeşil alglerden *Spirulina platensis* zengin protein ve mineral içeriğinden dolayı çok eski zamanlardan beri sağlıklı besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı; anti-oksidant, yaşlanmayı geciktiren ve savunma mekanizmasının güçlenmesinde etkili olan bu algin farklı ışık şiddetlerinde büyüme parametrelerinin takibi ve organik selenyumca zenginleştirilmesidir. Çalışmada *S. platensis*'in 5 farklı başlangıç pH (4, 5, 6, 7 ve 9)'ındaki kültür ortamlarına Selenyum (600 mg L^{-1}) eklenerek denemeler başlatılmış, iki farklı ışık şiddetinde ($1500\text{-}3000 \text{ lux}$), 0.04, 0.13, 0.25, 0.5 ve daha sonra hergün örnek alınarak 14 gün süreyle yaş (g/L) ve % kuru ağırlık, filament sayısı (filament/ml), büyüme hızı (bölünme/gün), klorofil-a miktarı ($\mu\text{g/L}$), pH değişimleri ve Se metali birikimleri (mg/g) takip edilmiştir.

Büyümenin; algin metal alım özelliğine, farklı ışık şiddetine ve başlangıç pH değerlerine bağlı olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar 600 mg L^{-1} Se içeren ortamlarda 0.13 günlük sürenin birikim için uygun olduğunu göstermektedir. 1500 lux ışık şiddetinde bu sürede başlangıç pH değeri 4 olan ortamda en yüksek Se birikimi ($263 \mu\text{g/g}$ yaş ağırlık) gözlenirken, yüksek ışık şiddetinde ise en yüksek birikim ($243 \mu\text{g/g}$ yaş ağırlık) için başlangıç pH değeri 5'dir.

ABSTRACT

THE EFFECT OF SELENIUM ACCUMULATION OF *SPIRULINA PLATENSIS* (CYANOPHYTA) GROWTH ON DIFFERENT LIGHT DENSITIES

Spirulina, a blue green microalga, has been used as a source of health foods since ancient times for its high protein and nutritional components. The aim of the present study was to culture high-value *Spirulina platensis* rich in organic selenium, which have been proved to have stronger ability for anti-oxidation, anti-aging, resistance to enhancement of immunity than ordinary *S. platensis*. Assays with two different light density: 1500-3000 lux ; five different initial pH: 4, 5, 6, 7, and 9; with 600 mg L⁻¹ Selenium concentration; and eighteen different inocula ages: 0.04, 0.13, 0.25, 0.5 days, and daily up to 14th days were conducted. During the experiments wet weight (g/L), % dry weight, filament number (filament/ml), growth rate (fission/day), chl-a amounts (µg/L), pH variation and Se accumulations (mg/g) of the wet weight were determined.

It has been shown that growth affected the metal adsorption properties of microalgae, light densities and culture initial pH. The results showed that the best inoculum age was 0.13 day with 600 mg L⁻¹ Selenium concentration. Under the 1500 lux light density, the best Se bioaccumulation of algal cells (243 µg/g wet w.) was initial pH 5 condition at 0.13 day, whereas the optimum initial pH for the maximum Se accumulation of algal cells (263 µg/g wet w.) on the high light density was 4.

2007, 49 pages

Key Words: *Spirulina platensis*, Selenium, Metal uptake, Growth, Biomass

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarımın her aşamasında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Ayşe Bahar YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmam süresince deneyim ve bilgilerini esirgemeyen, her türlü konuda bana yardımcı olan Sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Selin SAYIN'a, laboratuvar çalışmalarına yardımcı olan değerli arkadaşlarım S. Ertuğrul GÜVEN, Murat AKSOY, Cavit EROL, Kutalmış GÖKKUŞ, Şuğle DOĞANAY ve Nuran ÇAVDAR'a, örneklerin analizlerine ve tezimin yazımına yardımcı olan Su Ürünleri Yüksek Mühendisi değerli arkadaşım Yalçın TÖRE'ye teşekkür ederim. Tüm öğrenim sürem boyunca hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrad derece
L	Litre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
g	Gram
mg	Miligram
kg	Kilogram
lux	Aydınlanma şiddeti birimi
μ	Mikron
μg	Mikrogram
μM	Mikromolar
M	Molar
ppm	Milyonda bir (1/1000000)

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan <i>Spirulina</i> (Zarrouk) ortamı.....	12
Çizelge 4.1. Denemede uygulanan parametrelere göre grupların kodlanması.....	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. <i>Spirulina</i> Flamentlerinin Görünümü (x10).....	11
Şekil 3.2. Efektif doz denemesi.....	17
Şekil 3.3. İki ayrı ışık şiddetindeki (1500-3000lux) deneme düzeneği.....	18
Şekil 4.1. <i>Spirulina platensis</i> 'in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının yaş madde (g/L) değerleri.....	22
Şekil 4.2. <i>Spirulina platensis</i> 'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının yaş madde (g/L) değerleri.....	23
Şekil 4.3. <i>Spirulina platensis</i> 'in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının (%) kuru madde değerleri.....	24
Şekil 4.4. <i>Spirulina platensis</i> 'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının (%) kuru madde değerleri.....	25
Şekil 4.5. <i>Spirulina platensis</i> 'in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının filament sayıları (filament/ml).....	26
Şekil 4.6. <i>Spirulina platensis</i> 'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının filament sayıları (filament/ml).....	27
Şekil 4.7. <i>Spirulina platensis</i> 'in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının büyüme hızları (bölünme/gün).....	28
Şekil 4.8. <i>Spirulina platensis</i> 'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının büyüme hızları (bölünme/gün).....	29
Şekil 4.9. <i>Spirulina platensis</i> 'in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının klorofil değerleri (µg/L).....	30
Şekil 4.10. <i>Spirulina platensis</i> 'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının klorofil değerleri (µg/L).....	31
Şekil 4.11. <i>Spirulina platensis</i> 'in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının pH değerleri.....	32
Şekil 4.12. <i>Spirulina platensis</i> 'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının pH değerleri.....	33
Şekil 4.13. <i>Spirulina platensis</i> 'in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının Selenyum metali birikimi (mg/g)....	34

Şekil 4.14. *Spirulina platensis*'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının Selenyum metali birikimi ($\mu\text{g/L}$).....35

1.GİRİŞ

Dünyada giderek artan insan nüfusunun ihtiyaçlarına cevap verecek yeterli miktardaki proteinin sağlanması, beslenme problemlerinin en önemlilerinden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Nüfus ile beraber artan protein gereksiniminin yanında, şehirleşme ve sanayileşmenin artması, tarım ve orman alanlarının azalması gibi nedenler, açlık sorununu da beraberinde getirmektedir. Bilinen protein kaynaklarına yenilerinin eklenmesi konusunda çalışmalar, alglerin önemli bir besin ve protein kaynağı olabileceğini göstermektedir (BECKER, 1994).

Yüksek protein, vitamin, aminoasit içeriğine sahip olan mikroalglerden biri de mavi-yeşil alglerdir. Mavi-yeşil algler prokaryot özellikte olup, bitkiler aleminde çiçeksiz bitkiler (Kriptogam) grubu içinde yer alır. Çok farklı ortam koşullarına uyum gösterebilmelerinden dolayı dünyanın her yerinde ve çeşitli ekosistemlerde görülebilir (SCHEUER, 1981). Bugün yetiştiriciliği yapılan en önemli alg türlerinden biri 1990'lı yılların süper besini olarak tanımlanan *Spirulina platensis* (Cyanophyta)'dir (BECKER, 1994). *Spirulina sp.*'nin yoğun olarak Çad Gölü'nde bulunduğu, göl suyu sıcaklığının yıllık ortalama 27°C civarında olduğu ve pH'ın 7.2-9.0 arasında değiştiği bildirilmektedir. (RICHMOND, 1992). *Spirulina sp.*, doğal olarak yüksek alkaliniteye sahip sub-tropik alanlardaki göllerde de (Meksika'daki Texcaco Gölü ile Kenya'daki Rudolf ve Nakura Gölleri'nde) bulunmaktadır (HENRIKSON, 1993).

Spirulina platensis yetiştiriciliğinde diğer bitkisel besinlere göre daha az suyun gerektiği ve hasattan sonra arta kalan suyun yeniden kullanılabilirdiği, kara bitkilerine oranla su kullanımının çok daha az olduğu ve su kaybının daha düşük miktarlarda olduğu saptanmıştır (KAY, 1991). *Spirulina platensis*'in çevre kirliliğine sebep olmaması ve üretiminden hasatına kadar katkı maddesi kullanılmaması da yetiştiriciliğini cazip hale getirmektedir (BOROWITZKA, 1988). Çevre kirliliğine sebep olmadığı gibi, yüksek bitkilerle karşılaştırıldığında çevreye katkıları daha fazla olduğu bilinmektedir (FOX, 1996).

İnsan gıdalarına katılmak üzere son yıllarda büyük hacimlerde üretilen *Spirulina platensis* aynı zamanda sağlık alanında da geniş kullanım alanına sahiptir (COLLA ve ark., 2007). Yapılan araştırmalar sonucunda; *Spirulina platensis*'in AIDS, kanser, mide ve deri hastalıklarında (FEDKOVIC, 1993), zayıflama diyetleri ve yüksek radyasyonda (SESHADRI, 1992), kansızlık, kolestrol ve savunma mekanizmasında etkili olduğu,

günlük Manganez ihtiyacının %25'ini, Krom ihtiyacının %21'ini, Selenyum ihtiyacının da % 14'ünü karşıladığı bilinmektedir (JR ve GRAY, 1998; RAYMAN, 2000). Dünya Sağlık Örgütü uzmanları sağlığa yararlı etkileri olduğu belirlenen *Spirulina platensis*'in, sağlık gıda pazarlarında yeni bir uygulama olabileceğini bildirmişlerdir (HUANG ve ark., 2006).

İnsan sağlığı ve beslenmesi için büyük öneme sahip esansiyel eser elementlerden biride Selenyum'dur (CASES ve ark., 1999) ve günlük alınması gereken miktarı 90 µg/gün'dür. Ancak diyetteki miktarı Selenyum'un kimyasal yapısı ve faydalanılabilir formuna bağlı olarak değişkenlik gösterir (ŞİMŞEK ve ark., 2004). Farklı gıdalardan alınan Selenyum, üreme fonksiyonları ve zeka gelişimi için gerekli olup, bağışıklık sistemini kuvvetlendirir. Ayrıca, yaşlanmaya bağlı olarak ortaya çıkan kataraktı ve bazı virüslerin (grip) toksitesini (SANDSTROM ve ark., 1998), birçok kanser tipini, yaşlanmayı, kan pıhtılaşmasını, hipertansiyonu, kalp hastalıklarını, romatizmal ağrıları, guatrı, astımı, şeker hastalığını ve artriti önlemektedir (JR and GRAY, 1998; RAYMAN, 2000).

Spirulina platensis'in kültür ortam koşulları geliştirilerek daha fazla verim amaçlanırken, önemli bir esansiyel eser element olan Selenyum'ca da zenginleştirilmesi çalışmaları son yıllarda önem kazanmıştır. Besi ortamına Sodyum Selenit ilavesi ile biyomas artışı sağlanmıştır (PRONİNA ve ark., 2002). Kültür ortamının sıcaklığı ve ışık şiddetleri değiştirilerek büyüme oranı ve kuru madde ağırlığı arttırılmıştır (HUANG ve ark., 2006).

Bu çalışmada Selenyum ile zenginleştirilmiş *Spirulina platensis* üretimi için optimum koşullar ve bu koşullara ışık şiddetinin etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Etkili Selenit dozunun belirlenmesi için yapılan ön çalışmada (200, 300, 400, 500, 600, 700 mg/L), 600 mg/L Selenit içeren ortamlarda *Spirulina platensis*'in büyüme fazının uygun olduğu gözlenmiştir. Bu derişimde kurulan çalışmada farklı ışık şiddetlerinde (1500-3000 lux) ve farklı başlangıç pH gruplarında (4, 5, 6, 7) 14 gün süreyle; yaş (g/L) ve kuru madde (%), klorofi-a (µg/L), filament sayısı (filament/ml), büyüme hızı (bölünme/gün) ve Selenyum birikimi (mg/g) parametreleri takip edilmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

BECKER ve VENKATARAMAN (1980); Bazı alglerin (*Spirulina sp.* ve *Scenedesmus sp.*) ağır metalleri aşılamanın başlangıcından 12-24 saat sonra hücrelerinde yaklaşık % 80 oranında biriktirebileceğini bildirmişlerdir. Ağır metallerin algler tarafından tutulumunun karanlık fazda 2-3 kat daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu iki tür tarafından biriktirilmiş ve adsorbe edilmiş ağır metallerin 0,01 N HCL veya 0,01 N EDTA ile yıkanmasıyla kısa surede indirgendığını ileri sürmüşler, bu yöntemle ağır metallerle kirlenmiş atık suların temizlenmesinde alglerin yeni bir ümit kaynağı olabileceğini belirtmişlerdir.

ANDERSON ve MOREL (1982); Kıyasal diyatom *Thalassiosira weissflogii*'nin farklı ligandlar (EDTA, CTDA, DTPA, NTA) varlığında ışıklı ($95\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ve ışısız şartlarda, 200 nM Fe içeren ortamda (Aquil ortamı) Fe alım oranlarını araştırmışlardır. Işısız ortamda Fe alım oranının Fe^{3+} aktivitesinin bir fonksiyonu olduğunu belirlemişlerdir. Işıklı ortamda ise Fe alım oranının EDTA ve CTDA varlığında Fe(III)'ün Fe(II)'ye indirgendığı fotoreaksiyon ile arttığını saptamışlardır. Ligand yokluğunda ise Fe alım oranının ortama ilave edilen Fe(II) ve Fe(III)'ün konsantrasyonlarına bağlı olduğunu belirlemişlerdir.

TOMOSELLI (1987); *Spirulina platensis* M2 suşunun farklı sıcaklıklardaki besin değerini incelemiş ve 42 °C sıcaklıkta, 35 °C' deki kültüre göre protein oranının % 22 düşüş, lipid miktarının % 43 ve karbonhidrat miktarının % 30 arttığını kaydetmiştir.

RICHMOND (1992); *Spirulina sp.* 'nin bulanık durgun sular, akarsular, tatlı ve acı sular gibi çok çeşitli su ortamlarında yaşayabildiğini, yoğun olarak Çad Göl'ünde bulunduğunu, göl suyunun yıllık ortalama sıcaklığının 27 °C civarında olduğunu, pH'sının 7.2 ile 9 arasında değiştiğini, göl suyunun kimyasal yapısında HCO_3^- iyonu derişiminin yüksek, $\text{SO}_4^{=}$ ve Cl^- iyonlarının düşük yoğunlukta olduğunu bildirmiştir. *Spirulina sp.* kültüre alındığında, nitrat konsantrasyonunun 100 mg/L'den az, üre miktarının ise 1.5 g/L'nin altında olması gerektiğini ileri sürmüştür.

ZENG ve VONSHAK (1998); Optimum büyüme ortamında $100 - 200 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde farklı Sodyum Klorür konsantrasyonlarında (en yüksek 0,75 M) büyüme oranı, fotosentetik aktivite parametreleri 80 saat süreyle araştırmışlardır. Başlangıç uyum fazından sonra büyüme hızı ve fotosentetik aktivitenin inhibe olduğunu gözlemişlerdir. Farklı tuzluluk ve stres koşulları altında *Spirulina platensis*'de ışık

doygunluk değerinin düştüğünü, ışık kompensasyon noktasının düştüğünü bildirmişlerdir.

VAN HILLE ve ark., (1999); Asidik atık sulardan ağır metallerin giderimi için, alkali çökeltilmesinin uzun süren muameleler gerektirdiğini ve büyük maliyetlere sebep olduğunu bildirmişlerdir. Ağır metal bulaşmış asidik yapılı maden sularının biyolojik olarak arıtılmasında sürekli bir yöntem konusunda araştırma yapmışlardır. Kullandıkları yöntemde, 2,35 mg/L Kurşun, 7,16 mg/L Çinko ve 98,9 mg/L Demir içeren ortamdan, *Spirulina platensis* tarafından üretilen alkalinite etkisiyle, 14 günlük bir periyot sonucunda ortamdaki Kurşun'un % 95'ini Çinko'nun % 80'ini ve Demir'in % 99'unu uzaklaştırdığını ileri sürmüşlerdir.

OLGUIN ve ark., (2001); *Spirulina platensis*'in kültür ortamları domuz atıklarının parçalanmasıyla oluşan anaerobik deniz suyu ile hazırlanmıştır. *Spirulina platensis*'in kimyasal kompozisyonu, azotun büyümeye etkisi ve düşük ışık akışı parametrelerini takip etmişlerdir. 66 ve 144 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-2}$ ışık akışında 12 gün süreyle araştırma yapmışlardır. 12. gün sonunda kompleks kültür ortamının, biyomas konsantrasyonunun ışık yoğunluğuna bağlı olmaksızın Zarrouk ortamıyla aynı olduğunu bildirmişlerdir.

SAYDAM ve ark., (2001); Mavi-yeşil alglerden *Spirulina platensis*'in gelişimine sahra tozunun etkisini araştırmışlardır. Doğal su ortamı, bu ortama sahra tozu ve Zarrouk ortamı ilavesi ile 3 farklı ortam oluşturulmuştur. *Spirulina platensis*'in bu farklı 3 ortamdaki gelişimleri gözlenmiş, en iyi gelişimin doğal su ortamına sahra tozu ilavesi yapılmış koşullarda olduğunu bildirmişlerdir.

WANG ve ark., (2001); İki diyatom (*Thalassiosira pseudonana* ve *Skeletonema costatum*) ve bir yeşil alg (*Chlorella autotrophica*) içeren deniz ortamında majör besin maddelerinin, bu türlerde Kromat (Cr^{6+}) ve Selenit (Se^{4+}) birikimine etkilerini incelemişlerdir. Birikimin hızı, 5 saatlik periyotlarla alg hücrelerinde metal konsantrasyon faktörünün belirlenmesiyle ölçülmüştür. Se^{4+} 'ün, *Skeletonema costatum* ve *Chlorella autotrophica*'da az miktarda, *Thalassiosira pseudonana* diyatomunda daha yüksek miktarda biriktiğini öne sürmüşlerdir. Her iki diyatom ve yeşil algde ki Se^{4+} birikiminin, ortamdaki P ve Si derişimiyle ters ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Konsantrasyon faktörü 5 saatlik etkilenme sonunda 7,2 μM P yada 105,6 μM Si ilavesinde, sırasıyla 2,4–8,1 ve 1,5–4,6 kez azaldığını ileri sürmüşlerdir.

MOSULISHVILI ve ark., (2002); Selenyum ve iyot içeren farmakotiklerin üretiminde mavi–yeşil alg *Spirulina platensis*'in kullanılmasının büyük potansiyel olduğunu deneysel olarak göstermişlerdir. *Spirulina platensis* biyomasında ki 31 majör, minör ve eser elementleri (Na, Mg, Al, Cl, K, Ca, Sc, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, As, Br, Zn, Rb, Mo, Ag, Sb, I, Ba, Sm, Tb, Tm, Hf, Ta, W, Au, Hg, Th), epidermal nötron aktivasyon analizi vasıtasıyla belirlemişlerdir. Yukarıda belirtilen besin element ortamında, *Spirulina platensis* biyomasında Selenyum ve Iyot birikiminin etkisini incelemişlerdir.

PRONINA ve ark., (2002); Siyanobakter *Spirulina platensis*'in gelişimi ve Selenyum (Se) birikiminin Sodyum Selenit (Na_2SeO_3) ilaveli besin ortamıyla kültüre alındığını ve 20 mg/L altındaki Selenit konsantrasyonlarının *Spirulina platensis*'in büyümesini engellemediğini bildirmişlerdir. Bu tuzun 30 mg/L eklenmesiyle, lineer büyüme fazı süresince büyüme oranının azaldığını, durgun fazda süspansiyon geçiş süresini erken teşvik ettiğini ve optik densite de büyük azalmaya neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. *Spirulina platensis*'in yüksek Se konsantrasyonlarında (100-170 mg/L) bu metali Se^{4+} dan Se^{0} 'a indirgediğini, daha sonra kültür ortamında ve hücre yüzeyinde gizlediğini söylemişlerdir. Aynı zamanda, esas kuru ağırlıkta protein içeriğinin azaldığını, karbonhidrat ve lipidlerin biraz arttığını ileri sürmüşlerdir. 20 mg/L Sodyum Selenit (Na_2SeO_3) içeren ortamda, Se içeren biyomas ile kontrol hücreleri karşılaştırıldığında biyomasın 20000 kez arttığını, oysa biyomasın kimyasal kompozisyonunun değişmediğini bildirmişlerdir. Bu durumda Selenyum'un protein kısımlarına bütünüyle bağlandığı, Sülfür içeriği az olan ortamda Se konsantrasyonunun çok önemli şekilde arttığını bildirmişlerdir.

RANGSAYATORN ve ark., (2002); Düşük konsantrasyonlu Kadmiyum içeren (100 mg/L'den az) atık sulardan Kadmiyumun giderilmesi için *Spirulina platensis*'in kullanılabilirliğini araştırmışlardır. 96 saat süre ile 6 farklı Cd konsantrasyonunu çalışmış ve büyüme hızını 560 nm ışık yoğunluğunu kullanarak belirlemişlerdir. İnhibe eden konsantrasyonu (IC_{50}) probit analizi ile belirlemişlerdir. 24, 48, 72, 96. saatlerde IC_{50} değerlerinin sırasıyla; 13.15, 16.68, 17.28 ve 18.35 mg/L Kadmiyum olduğunu tespit etmişlerdir. Kadmiyum metali alımında kültür ortamı sıcaklığının etkili olmadığını, ancak büyümede pH değişiminin çok etkili olduğunu öne sürmüşlerdir. Alg hücrelerinin biyolojik birikimi için optimum pH'ın 7 olduğunu bildirmişlerdir. Cd metal

alım mekanizmasının çok hızlı olduğunu, ilk 5 dakikada metal tutumunun % 78'inin tamamlandığını ileri sürmüşlerdir. Biyolojik birikim verilerinin Langmuir eşitliğine çok iyi uyduğunu öne sürmüşlerdir. 1 gram *Spirulina platensis*'in biyomasında maksimum Cd birikim kapasitesinin 98.04 mg olduğunu bildirmişlerdir.

LI ve ark., (2003); *Spirulina platensis*'in gelişiminde ve biyotransformasyonun da selenit'in biyolojik etkilerini araştırmışlardır. *Spirulina platensis*'i Sodyum Selenit'in artan konsantrasyonlarını kapsayan Zarrouk ortamında kültüre almışlardır. $315.2 \mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$ ve $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 400 mg/L'nin altında ki Sodyum Selenit konsantrasyonlarında, özellikle 0,5-40 mg/L arasındaki ortamlarda, alg gelişimini teşvik ettiğini ileri sürmüşlerdir. Fakat Sodyum Selenit'in 500 mg/L'nin üzerinde, ortamdaki Sülfid seviyesi ile ilişkili olarak alg yaşamı için toksik olduğunu bildirmişlerdir. *Spirulina platensis*'in toksik Se^{4+} 'ün suda çözünmeyen Se^0 'a dönüşerek azalmasıyla yüksek Selenite dirençli olduğunu bulmuşlardır. Ortamda Selenit konsantrasyonunun artışıyla, *Spirulina platensis*'te kültür boyunca etkili bir şekilde Se birikiminin olduğunu bildirmişlerdir. İnorganik Selenit'in polisakkaritler, lipidler, protein ve diğer hücre bileşenlerine bağlanma yolu ile organik forma dönüşebileceğini kanıtlamışlardır. Organik Selenyum, toplam Selenyum birikiminin % 85,1'i olarak tespit etmiş ve % 2,1'i polisakkaride, % 10,6'ı lipide ve % 25,2'nin de suda çözünebilir proteine bağlı Selenyum olduğunu vurgulamışlardır. Organik yapılar arasında lipidlerin Se (6,47 mg/kg) birikiminde en kuvvetli verime sahip olduğunu söylemişlerdir. *Spirulina platensis*'de ki inorganik Selenyum (% 14,9) % 13,7'nin Se^{4+} ve % 1,2'nin Se^{6+} 'ı içerdiğini ileri sürmüşlerdir.

BELOKOBYSKY ve ark., (2004); *Spirulina platensis* hücrelerinde Se^{4+} ve Cr^{3+} birikim dinamiklerini, epidermal nötron aktivasyon analizleriyle belirlemişlerdir. *Spirulina platensis*'in büyüme ve morfolojisinde, Se^{4+} ve Cr^{3+} 'ün etkisini ayrı ayrı ve birlikte tartışmış, Cr birikiminin Se'den daha yoğun olduğunu tespit etmişlerdir. Se ve Cr'un birlikte meydana getirdikleri etkileri, *Spirulina platensis*'in protein içeriği ve morfolojisini değiştirmeksizin, direkt büyüme dinamiklerine tesir ettiğini bildirmişlerdir.

CHOJNACKA ve ark., (2004); Bakır fabrikaları ve rafinerilerden su ve toprağa deşarj edilen atık sularda izin verilen limitlerin üzerindeki yüksek konsantrasyonlarda özellikle Amonyum-azotu, Kadmiyum ve Civa gibi eser elementlerin farklı derişimlerinin giderilmesi için *Spirulina sp.* mikroalginin uygulanabilirliğini araştırmışlardır. Eser elementlerin gideriminin kirlenmenin ($\mu\text{g}/\text{kg}$ seviyelerinde) çok

düşük konsantrasyonları yüzünden hala çözümlenemeyen bir problem olduğunu söylemişlerdir. Çalışmada, atık su işlemlerinde mixotrofik siyanobakter *Spirulina sp.* ile biyolojik birikim metodu kullanılarak bu atıklarda düşük maliyetli işlemlerle arıtım önerilmiştir.

YAGUI ve ark., (2004); *Spirulina platensis*'in kültür ortamında 500 mg/L üre bulunan 1400 lux, 3500 lux ve 5600 lux ışık şiddetlerindeki ortamlarda, 30 °C'de 16 gün süreyle büyümesi çalışılmış ve klorofil-a üretimi belirlenmiştir. En iyi hücresel büyüme 5600 lux ışık şiddetinde, en yüksek klorofil-a konsantrasyonunun ise 3500 lux'de belirlendiğini ileri sürmüşlerdir. 3500 lux hem klorofil-a miktarı, hem de *Spirulina platensis*'in büyümesi yönünden diğer iki ışık şiddetine göre daha iyi olduğunu belirlemişlerdir.

CHEN ve ark., (2005); *Spirulina platensis*'in mixotrofik kültürlerinde Selenyum birikimini incelemişlerdir. *Spirulina platensis*'in mixotrofik kültürleri için organik karbon kaynağı olarak glukozun asetattan daha iyi olduğunu öne sürmüşlerdir. *S. platensis*'te glukoz ilavesi (2 g/L), allofikosiyenin (0,126 g/L) ve fikosiyenin (0,279 g/L) üretiminin, biyomas konsantrasyonunun (2,57 g/L) gelişiminde etkili olduğunu ve bunların fotoötotrofik kültürlerden (sırasıyla, 0,042 g/L, 0,119 g/L, 1,08 g/L) çok daha yüksek değerlerde bulunduğunu ileri sürmüşlerdir. Büyüme fazı süresince Selenyumu yavaş yavaş ilave ederek *Spirulina platensis*'in büyümesinde yüksek Selenyum konsantrasyonunun inhibitör etkisinden kaçınmışlardır. Selenyum zenginliğinin alg hücrelerinde allofikosiyenin ve fikosiyenin ürününü arttırdığını bildirmişlerdir. En yüksek Selenyum verimi (1033 µg/L) 250 mg/L Selenyum derişimi birikiminde; organik Selenyum yüzdesi % 92,3, biyomas konsantrasyonu 2,55 g/L, fikosiyenin 0,295 g/L ve allofikosiyenin 0,153 g/L olduğunu belirlemişlerdir. *Spirulina platensis* mixotrofik kültür ortamına Selenyum'un adım adım ilavesinin Selenyum ile zenginleştirilmiş alg ürünlerinin üretimi için etkili ve ekonomik bir yol olabileceğini belirlemişlerdir.

CHOJNACKA ve ark., (2005); Mavi-yeşil alg *Spirulina platensis*'in ağır metal iyonlarını (Cr^{3+} , Cd^{2+} , Cu^{2+}) biyolojik alım mekanizmasını çalışmışlardır. Potansiyometrik titrasyon ve adsorbsiyon izotermeler metodlarının her ikisinde kullanılarak *Spirulina platensis*'in yüzeyinde bağlanma potansiyelini araştırmışlardır. Kinetik deneyler, ürün dengesine 5 - 10 dakikadan daha az bir sürede çabucak

ulaşıldığını göstermiş, biyolojik alım kapasitesi ile denge arasında ve metal iyon konsantrasyon miktarları Langmuir eşitliği ile belirlenmiştir. Biyolojik alım mekanizmasının fiziksel yüzeyde tutmadan daha çok kimyasal alım olduğunu, biyolojik alımdan sonra çözeltide katyonların bulunmasıyla ve düşük yüzey alanlarıyla fiziksel yüzey tutumunun bağlantılı olduğunu teyit etmişlerdir. Tüm biyolojik alım işleminde fiziksel yüzey tutumunun maximum dağılımının % 3.7 olduğunu, hücre yüzeyinde fonksiyonel grupların denge reaksiyonlarıyla metal iyonlarının bağlandığını bildirmişlerdir. Katyon değişiminin 3 fonksiyonel grup kapasitesiyle hücre yüzeyinde oluştuğunu, bu oluşumun pH ile kuvvetli bir ilişkisi olduğunu ileri sürmüşlerdir.

LI ve ark., (2005); *Spirulina platensis*'in Cr (III) alım mekanizması ve bu mekanizmanın termodinamik izotermeler ile açıklanmasını araştırmışlardır. Kültür ortamında Krom metali bulunduğunda, başlangıçta bu metalin elektrostatik etkilenme ile alg hücre duvarında fiziksel olarak adsorblandığını, daha sonra kimyasal kompleksler yardımıyla (K^+ , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} , H^+ v.b. iyonlarla) iyon değişimleri yaparak hücre içine alımlarının sağlandığını ileri sürmüşlerdir. *Spirulina platensis*'in bünyesine Krom alımında sıcaklık, ışık, hücre konsantrasyonu gibi parametreler yanında pH'nın en önemli faktör olduğunu bildirmişlerdir.

NALİMOVA ve ark., (2005); *Spirulina platensis*'in büyümesine ve ağır metal biriktirme kapasitesine Bakır (Cu) ve Çinko (Zn)'nun etkilerini araştırmışlardır. *Spirulina platensis*'in ağır metallere toleransını kültür büyüme fazına bağlı olarak izlemişlerdir. Büyüme fazı süresince Cu ilave edildiğinde lethal konsantrasyonun 5 mg/L olabileceğini oysa ki lineer büyüme fazı süresinde lethal dozun 4 mg/L olması gerektiğini ileri sürmüşlerdir. Zn konsantrasyonunun 8,8 mg/L değerinin durgunluk fazda olmasa da, lineer büyüme fazında lethal doz olabileceğini belirtmişlerdir. Ağır metal etkisindeki *Spirulina platensis* hücrelerinin kontrol hücrelerinden 10 kat daha fazla Cu ve Zn biriktirme kapasitesine sahip olduklarını bildirmişlerdir. Ortamın Cu içeriğine ve büyüme fazına bağlı olmaksızın kültür hücrelerinin hücre duvarı polisakkaritlerinin yardımıyla, hemen hemen 1 saatte bu metalin büyük miktarını biriktirebildiğini belirlemişlerdir. Zn lineer büyüme fazı sırasında eklendiğinde, benzer şekilde 1 saat sonra yüksek birikim ve sonra başlangıç seviyesine doğru azalma olduğunu, onun birikiminin de benzer şekilde oluştuğunu saptamışlardır. Kültür başlangıç yoğunluğu düşük ve hücrelerin ağır metal adaptasyonu uzun süreli olduğunda,

Zn'nin lineer büyüme fazı başlangıcı süresince biriktiğini ve daha sonra metalin ortamda gizlendiğini ileri sürmüşlerdir. Ağır metalin *Spirulina platensis*'e tolerans mekanizmasının hücre duvarlarıyla alımı ve kültür ortamında metal fazlalığının gizlenmesinin her ikisi ile de ilişkili olduğunu ve hücrelerde beklenmeyen formlara dönüşümler olabileceğini tartışmışlardır.

HUANG ve ark., (2006a); *Spirulina platensis*'ten izole edilen Selenyum içeren fikosiyaninin antioksidant aktivitesi ve karakterizasyonunu araştırmışlardır. Selenyum içeren fikosiyaninin (Se-PC) 3 farklı formunu (monomer($\alpha\beta$), Se-PC1, trimer ($\alpha\beta$)₃, Se-PC2 ve heksamer ($\alpha\beta$)₆ Se-PC3), Selenyum'ca zengin *Spirulina platensis*'ten saflaştırmışlardır. Dünya Sağlık Örgütü uzmanlarınca sağlığa yararlı etkileri olduğu bildirilen *Spirulina platensis*'den izole edilmiş Se-PC'nin sağlıklı gıda pazarlarında yeni bir uygulama olabileceğini söylemişlerdir.

HUANG ve ark., (2006b); Selenyum ile zenginleştirilmiş *Spirulina platensis* biyomasında Selenyum dağılımı ve kimyasal kompozisyonunu araştırmışlardır. *Spirulina platensis*'in 10mg/L içeren Se ortamlarının farklı sıcaklıklarda (25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C), farklı kükürt ortamlarında (50 mg/L, 100 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L) ve farklı ışık şiddetlerinde (2000 lux, 5000 lux, 8000 lux) çalışarak optimum koşulları belirlemişlerdir. Selenyumca zenginleşmiş *Spirulina platensis* (SeSP) kültür koşullarının, 5000 lux aydınlatmalı 30 - 35 °C sıcaklık altında Sülfatın 200 mg/L ile, ortamda 10 mg/L Se ilavesi kullanılarak optimum koşulların sağlandığını ileri sürmüşlerdir. Kültürün 10. gününden sonra elde edilen kuru biyomasın 3 g/L'nin üzerinde, alg hücrelerinin kuru ağırlığında toplam Se içeriğinin 30 µg/g'm üzerinde olduğunu söylemişlerdir. SeSP kullanılarak oluşturulan denemeler bu uygun kültür koşulları altında hazırlanmış, Sodyum Selenit içermeyen ortamlardaki *Spirulina platensis*'i kontrol grubu (SP) olarak belirlemişlerdir. SP ve SeSP'de büyüme oranı, kuru ağırlık ve alg hücrelerindeki Se içeriğini takip etmiş, SeSP ortamlarının büyüme oranı ve kuru ağırlığının SP'ye göre 850 kat daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

SOLISIO ve ark., (2006); *Spirulina platensis*'in kuru ve yeniden ıslatılmış biyomasları yardımıyla sudan Bakır giderimini çalışmışlardır. Kullanılmadan 24 saat önce yeniden ıslatılan biyomas kuru biyomas ile karşılaştırıldığında giderim yüzdesinin arttığını, adsorbsiyon süresinin kısaldığını gözlemlemişlerdir. Bakır (0,1 – 0,4 g/L)'ın yeniden ıslatılmış biyomas (1,0 – 4,0 g/L) konsantrasyonları üzerine etkilerini

araştırmışlardır. Bakır, yüksek biyomas seviyelerinde (x_0 2,0 $g_{DM} l^{-1}$) % 91 oranında giderilirken, 1,0 $g_{DM} l^{-1}$ ortamında başlangıçtaki miktarının sadece % 81'nin giderilebileceğini gözlemlemişlerdir. Değişken zamanlar için yeniden ıslatılan biyomasın ilave testlerinin performansı; bu işlemlerin 48 saatten daha az bir sürede bakır giderimini sağladığı ancak uzun süreli yeniden ıslatılmış kütlelerin kullanımıyla farklı bir gelişimin olmadığı belirlenmiştir.

COLLA ve ark., (2007); Tedavi edici ve gıda maddesi olarak kullanılan *Spirulina platensis*'in farklı sıcaklık ve azot ortamlarında biyomas ve besin bileşiklerinin (lipid, protein femolik bileşikler) kompozisyonlarını araştırmışlardır. 35 °C'de, 1,875 veya 2,500 g/L Sodyum Nitrat içeren Zarrouk ortamında protein, lipid ve fenolik ürünler en yüksek seviyede bulunarak ortamda pozitif etkili olurken, bu ortamın biyomas üretiminde negatif bir etki gösterdiğini bulmuşlardır. Yüksek biyomas yoğunluğu ve verimlilik 30 °C'de 35 °C'den daha fazla bulunmuş, fakat azot konsantrasyonu protein, lipid ve fenoliklerin miktarlarında etkili olmamış, 30 °C'de Zarrouk ortamında Sodyum Nitrat konsantrasyonu (2,500 g/L) verimlilik hassasiyetini azaltmıştır.

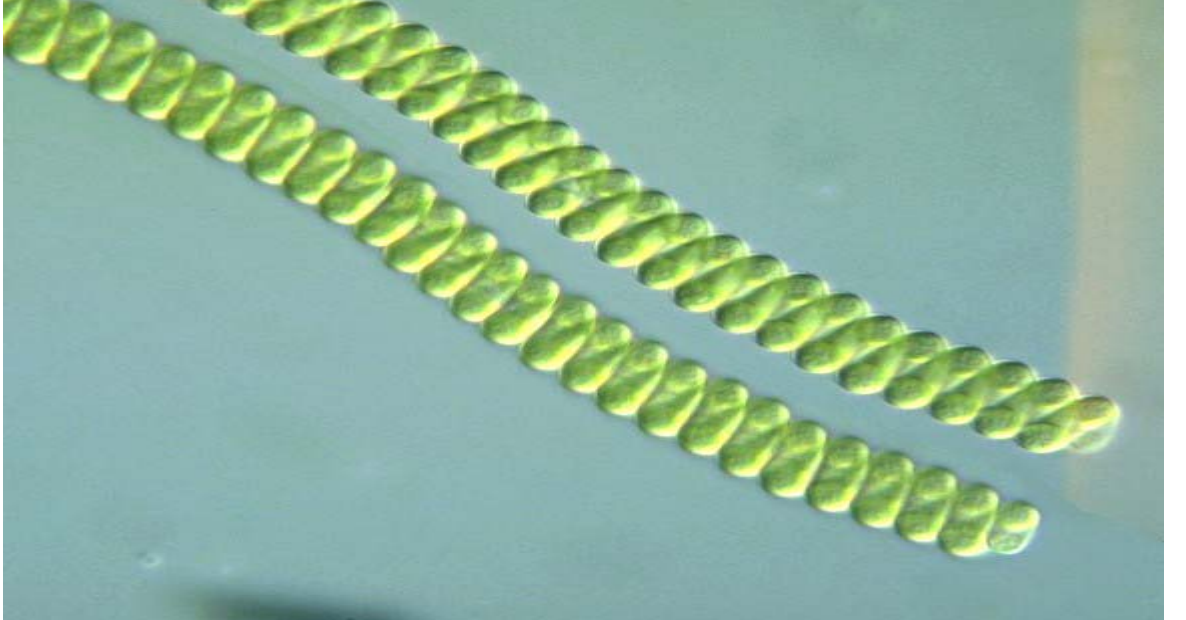
LI ve ark., (2007); 0 – 0.55 T elektromanyetik alanda (EMF) dış döngü ile 3.5 manyetik air–life fotobiyoreaktörde kültüre edilmiş *Spirulina platensis* gruplarının, alg büyüme ve besin kompozisyonunda EMF etkisine maruz bırakılmasını araştırmışlardır. Aynı zamanda C, N, P alımına dayanan mekanizmaları tartışmış, EMF'nin, EMF yoğunluğuna bağlı olarak *Spirulina platensis* kültüründe çift taraflı etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır. 0.25 T EMF stresi ile kontrol koşulları olan, 252 μmol ışık $m^{-2} S^{-1}$ ve 35 °C'de 2 günde ulaşılan maximum kuru hücre ağırlığına daha kısa sürede ulaşıldığını bildirmişlerdir. Aynı zamanda *Spirulina platensis*'in besin kompozisyonunun; Ni, Sr, Cu, Mg, Fe, Mn, Ca, Co ve V gibi eser elementleri ve histidin gibi esansiyel aminoasitlerin her ikisini birlikte geliştirdiğini söylemişlerdir. Belirli güçte uygulanan EMF etkisiyle *Spirulina platensis*'in uygun kültür koşullarında, mineral ve besin alımını arttırılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *Spirulina platensis*

Denemede kullanılan fitoplankton türü *Spirulina platensis* (*Cyanophyta*) M2 suşu, Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Plankton Ünitesinden sağlanmıştır. Denemede kullanılan *Spirulina platensis* M2 suşu, *Cyanophyta* filumunun *Nostocales* takımı *Oscillatoriaceae* familyası içerisinde yer alır ve uzunluğu yaklaşık 110 mikrometre (μm) olan filamentlere sahiptir. Hücre çapları, küçük boyutlu türlerde 1-3 μm , daha büyük türlerde ise 3-12 μm arasında değişmektedir (RICHMOND, 1986).



Şekil 3.1. *Spirulina* Flamentlerinin Görünümü

3.1.2. Araştırmada kullanılan kimyasallar

Spirulina platensis'in kültüre alınmasında Zarrouk ortamı kullanılmıştır. Bu ortamın hazırlanmasında kullanılan kimyasal (Merck) ve miktarları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Kültür ortamı pH'nın ayarlanmasında kullanılan kimyasallar

HCl (Hidroklorik asit)- 6M

NaOH (Sodyum hidroksit)- 6M

Analizler yapılırken kullanılan kimyasallar

HNO₃ (Nitrik asit)

CH₃COCH₃ (Aseton)

MgCO₃ (Mağnezyum karbonat)

OCH₂ (Formaldehit)

Na₂SeO₃ (Sodyum selenit)

Çizelge 3.1. Denemede Kullanılan *Spirulina* (Zarrouk) Ortamı

Ortamlar	Madde	Miktar
PART 1	NaHCO ₃ (Sodyumbikarbonat)	18.6g
	Na ₂ CO ₃ (Sodyum karbonat)	8.06g
	K ₂ HPO ₄ (Potasyum fosfat)	1.00g
	Distile su (Saf su)	500.0ml
PART2	NaNO ₃ (Sodyum nitrat)	5.00g
	K ₂ SO ₄ (Potasyum sülfat)	2.00g
	NaCl (Sodyum klorür)	2.00g
	MgSO ₄ .7H ₂ O (Mağnezyum sülfat 7.mol su)	0.40g
	CaCl ₂ .2H ₂ O (Kalsiyum klorür 2.mol su)	0.02g
	FeSO ₄ .7H ₂ O (Demir sülfat 7.mol su)	0.02g
	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ .2H ₂ O (EDTA)	0.16g
	Mikro Element Solüsyonu	10.0ml
	Vitamin Solüsyonu	5.00ml
	Distile su (Saf su)	500.0ml
MİKROELEMENT SOLÜSYONU	ZnSO ₄ .7H ₂ O (Çinko sülfat 7.mol su)	0.001g
	MnSO ₄ .7H ₂ O (Mangan II sülfat 7.mol su)	0.002g
	H ₃ BO ₃ (Borik asit)	0.01g
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O (Sodyum molübdat 2.mol su)	0.001g
	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O (Kobalt II nitrat 6. mol su)	0.001g
	CuSO ₄ .5H ₂ O (Bakır II sülfat 5.mol su)	0.00005g
	FeSO ₄ .7H ₂ O (Demir II sülfat 7.mol su)	0.7g
	FeSO ₄ .7H ₂ O (Demir II sülfat 7.mol su)	0.8g
	Distile su (Saf su)	1.0L

3.1.3. Araştırmada kullanılan ekipmanlar

3.1.3.1. pH Metre

Araştırmamızda, kültür ortamlarının pH ayarları ve ölçümleri için WTW marka 330i model pH metre kullanılmıştır.

3.1.3.2. Terazi

Araştırma süresince tartım işlemleri XB 320M Precisa model (0.001-0.01gr) hassas terazi ile yapılmıştır.

3.1.3.3. Flament Sayım Kamerası

Spirulina platensis'in hücresel artışının belirlenmesi için Sedgewick- Rafter Cell S50 model sayım kamerasından yararlanılmıştır.

3.1.3.4. Spektrofotometre

UV-160 1 PC, Shimadzu visible model Spektrofotometre kullanarak Klorofil-a tayini yapılmıştır.

3.1.3.5. Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES)

Spirulina platensis'de Selenyum birikim miktarının belirlenmesi için ICP-AES Varian Liberty Series II model spektrofotometre kullanılmıştır.

3.1.3.6. Filtrasyon Malzemeleri

Araştırmamızda örneklerin yoğun hale getirilmesi için su trombu (SM 16 510 model filtre mekanizması), 0-45 µm göz açıklığında ve 47 mm çapında (GF6 Glasfaser

Rundfilter marka) filtre kağıdı ve çözme işleminde örneklerin süzülmesi için 125mm çaplı (Schleicher Schull marka mavi bant) filtre kağıdından yararlanılmıştır.

3.1.3.7. Etüv ve Otoklav

Çalışmada kullanılan tüm cam malzemelerin sterilizasyonu için FN 500 model Etüv, kültür ortamlarının sterilizasyonu için Hirayama HA-300M IV model elektrikli otoklav kullanılmıştır.

3.1.3.8. Santrifüj

M 81 5E model santrifüj cihazı kullanılarak örneklerin çökeltme işlemleri yapılmıştır.

3.1.3.9. Mikroskop

Araştırmamızda hücre sayımları için Olympus CH20 model mikroskoptan yararlanılmıştır.

3.1.3.10. Işık-ölçer

1500 ve 3000 lux şiddetinde ışık oluşturmak amacıyla 18 W'lık fleurosan lambalar kullanılmış ve TES 1332A model ışık-ölçer ile araştırma süresince ışık şiddeti ölçülmüştür.

3.1.3.11. Gaz Maskesi

Çalışmada örneklerin asitlerle çözdürülmesi işleminde güvenlik amacıyla X-PLORE 6300 model gaz maskesi kullanılmıştır.

3.1.3.12. İklimlendirme Cihazı

Denemenin yürütüldüğü laboratuvarın sıcaklık ayarı Demirdöküm marka klima ile sağlanmıştır.

3.1.3.13. Kompresor

Araştırmada kurulan kültür ortamlarının havalandırılması için Brand Risheng marka kompresor kullanılmıştır.

3.1.3.14. Deney Setleri

Spirulina platensis kültür ortamları 3 L'lik polietilen plastik kaplara konulmuş, kapaklarına monte edilen akvaryum hortumu girişi ile kültürün havalandırılması sağlanmış ve örneklerin alınması için 10 ml'lik polietilen şırıngalar monte edilerek bir deney seti oluşturulmuştur.

3.2. Yöntem

3.2.1. Araştırmada Kullanılan Kapların Temizliği ve Sterilizasyonu

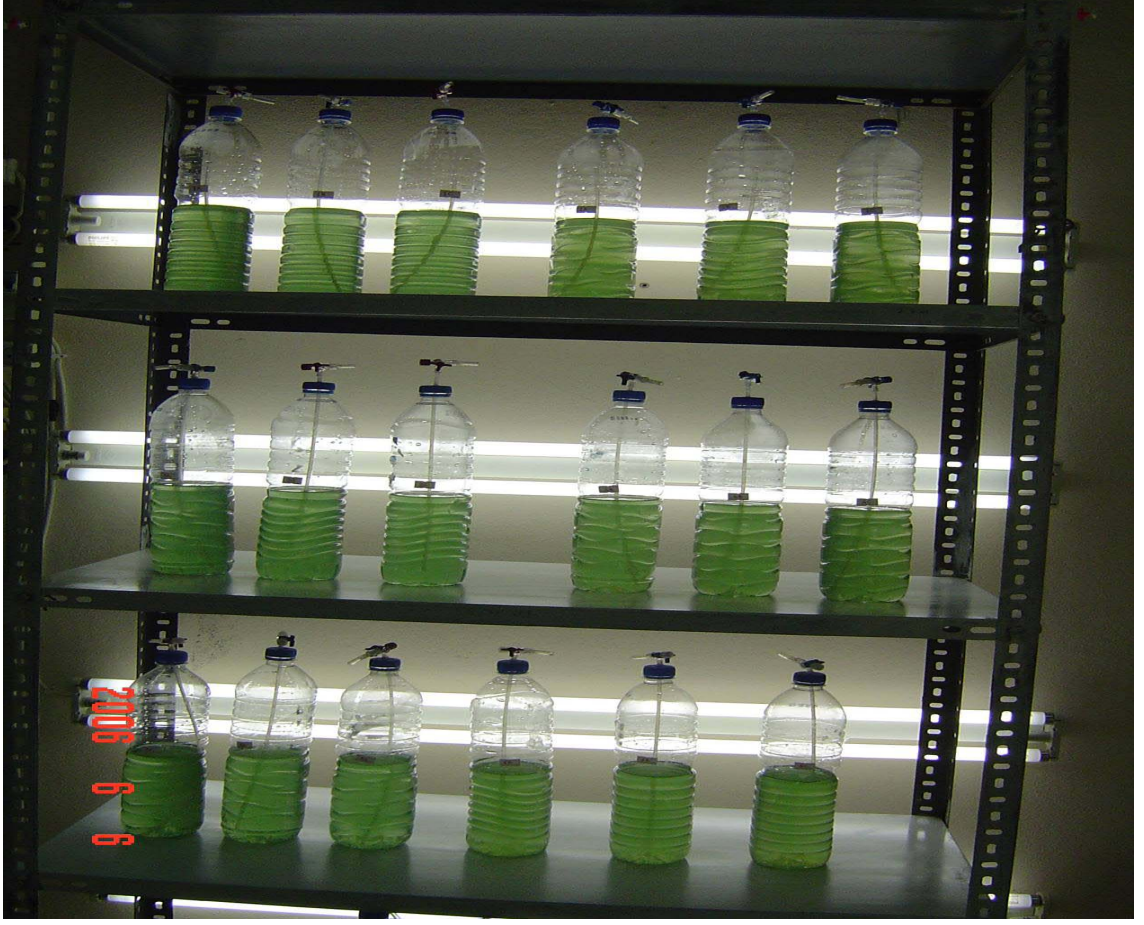
Cam ve plastik malzemelerin temizliği, başarılı alg kültürleri için dikkatle yapılması gereken bir işlemdir. Bütün malzemeler HCl (6M) çözeltisi ile temizlenerek mikroorganizmalardan ve metallerinden arındırılmış ve ardından en az 5 kez saf su ile durulanmıştır. Metallerinden ve herhangi bir mikroorganizma kontaminasyonundan arındırılmış olan tüm malzemeler temiz plastik poşetlere koyularak ağızları herhangi bir kontaminasyonu engellemek amacıyla iyice kapatılmış ve kullanılıncaya kadar poşetlerin içerisinde saklanmıştır. Araştırmada kullanılan tüm besi ortamları (Zarrouk) otoklav'da 121 °C' de 30-35 dakika steril edilmiş ve +4 °C' de depolanmıştır.

3.2.2. *Spirulina platensis* Aşı Kùltürleri

Mustafa Kemal Üniversitesi, Su Ürünleri Fakùltesi Plankton Laboratuvarı'nda, iklimlendirme cihazı kullanılarak 28 ± 1 °C'de sabitlenmiş oda sıcaklığında, 1000 lux ışık şiddetinde sürekli aydınlanma ve havalandırmanın sağlandığı laboratuvar koşullarında *S. platensis* (*Cyanophyta*) 5 lt'lik plastik kaplarda kùltüre alınmıştır. Kùltürlere haftada iki defa *Spirulina* ortamı verilerek kùltürlerin devamlılığını sağlanmıştır.

3.2.3. Efektif Doz Denemesi

Spirulina platensis için efektif Selenyum metali dozunu belirlemek amacıyla ön deneme oluşturulmuştur. Ortam sıcaklığı 28 ± 1 °C, aydınlatma şiddeti 1000 lux olacak şekilde sürekli aydınlanma ve havalandırma sağlanmış deney setlerinde 900 ml'lik kùltürler oluşturulmuştur. Kùltür ortamlarının başlangıç pH'ları 9 olarak ölçülmüş, toplam 21 adet kùltür kabı ile deneme kurulmuştur. Ön denemede kontrol grubu (Sodyum Selenit içermeyen) ve 200 mg/L, 300 mg/L, 400 mg/L, 500 mg/L, 600 mg/L ve 700 mg/L Sodyum Selenit (Na_2SeO_3) içeren ortamlar hazırlanmıştır. Ön deneme 3 paralelli olarak yürütölmüş, klorofil-a değerleri 7 gün süre ile takip edilmiştir. 600 mg/L Sodyum Selenit içeren ortam efektif doz olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.2. Efektif doz denemesi

3.2.4. Araştırmanın Kurulması ve Yürütülmesi

Plankton laboratuvarında denemede kullanılacak olan *Spirulina platensis* türü aşı kültürleri 5L'lik kaplarda kültüre alınarak üretilmiştir. Araştırmada kullanılacak olan 1500 ve 3000 lux ışık şiddetleri ışıkölçer ile ayarlanmış ve deneme boyunca aydınlanma sürekli olacak şekilde ayarlanmıştır. Çalışmamızda kullanılacak kültür ortamlarının pH değerleri 4, 5, 6, 7 ve 9 olarak HCl (6M) ve NaOH (6M) çözeltileri ile ayarlanmıştır. İlk olarak aşı kültürlerinden deneme kaplarına 400 ml *Spirulina* aktarılmış ardından, pH'ları ayarlanmış Zarrouk ortamları ilave edilmiş ve Se derişimi 600 mg/L (Na_2SeO_3) olacak şekilde toplam 2 L'lik ortamlar oluşturulmuştur. Çalışma her pH grubu için 3 paralelli olarak yürütülmüştür. Deneme planı Çizelge 3.2'de verilmiştir. Deneme kurulduktan sonra 14 gün süreyle klorofil-a ($\mu\text{g/L}$), filament sayımı (filament/ml) ve kuru madde (%) takibi için günlük örnekler alınmıştır. Araştırma kurulduktan sonra 1.,

3., 6. ve 12. saatlerde ve daha sonra günlük olarak pH ölçümleri, ya madde (g/L) ve *Spirulina platensis*'de Selenyum birikim miktarının takibi için metodlarda belirtilen hacimlerde örnekler alınmıştır.



Şekil 3.3. İki ayrı ışık Ŗiddetindeki (1500-3000 lux) deneme düzeneği

3.2.5. Araştırma Süresince Takip Edilen Parametreler

3.2.5.1. Ya (g/L) ve Kuru Madde (%) Tayini

Ya ve Kuru madde miktarlarının saptanması için deneme kaplarından alınan (10ml) rnekler, 0.45 μm göz açıklığındaki filtre kâğıtları, süzme düzeneği ve bir su trombu kullanmak suretiyle yaratılan vakum yardımıyla yoğun hale getirilmiştir. Filtre kâğıtları süzme işlemi yapılmadan önce 60 $^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakika etüv de tutulup desikatöre alınmış ve oda sıcaklığına gelene kadar soğumaya bırakılmıştır. Soğutulduktan sonra terazide ağırlıkları alınmış ve ardından süzme işlemi yapılmıştır. Süzme işleminde sonra filtre kâğıtları terazide tekrardan tartılmış ve bu iki tartım arasındaki fark ile ya

madde ağırlığı belirlenmiştir. Tartımdan sonra, filtre kâğıtları etüvde 60 °C’de 30 dakika tekrar tutulmuştur. Bu süre sonunda fitre kâğıtları bir desikatöre konularak, oda sıcaklığına ulaşınca kadar soğumaları sağlanmış ve daha sonra terazide tekrar tartımları yapılmıştır. Örnekler yaş iken yapılan tartımlar sonucu elde edilen değerlerden, kurutulduktan sonraki tartım değerleri çıkarılarak kuru madde miktarı hesaplanmış ve % değerler elde edilmiştir (CİRİK ve GÖKPINAR, 1993).

3.2.5.2. Flament Sayımı (filament/ml)

Günlük olarak flament sayımı için 5ml’lik örnekler alınmıştır. Alınan örnekler %4’lük formaldehit ile tesbit edilmiş, sayımlar Sedwig-Rafter sayım kamarası ile 4 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

3.2.5.3. Klorofil-a Tayini (µg/L)

Deneme boyunca klorofil analizi için, her bir deneme kabından 5 ml örnek alınmıştır. Alınan örnekler su trompu yardımıyla filtre kağıdından (0,45 µm göz açıklığında) süzülmüş, sonra filtre kağıtları oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Nispeten kuruyan filtre kağıtları, içinde 10 ml %90’lık saf aseton bulunan deney tüplerine konmuştur. Klorofilin feofitin oluşturmasını önlemek için deney tüplerine 2 damla %1’lik MgCO₃ ilave edilmiştir. Ağızları mantar tıpa ile kapatılan deney tüpleri çalkalandıktan sonra buzdolabında (+4 °C’de) 24 saat karanlıkta bırakılmış ve çözünme süresi sonunda üstteki berrak kısım alınarak spektrofotometrede 630nm, 645nm, 665nm ve 750nm dalga boylarında absorpsiyon değerleri ölçülmüştür. Klorofil-a analizi 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Klorofil-a miktarları aşağıdaki formülden hesaplanmıştır (PARSON ve STRICKLAND, 1963).

$$\text{Klorofil-a (mg / m}^3\text{)} = \frac{v(11,6xD_{665} - 0,14xD_{630} - 1,31xD_{645})}{I \times V}$$

v: Ekstraksiyon için kullanılan asetonun hacmi (ml)

V: Ölçümler için süzülen örnek suyun hacmi (L)

I: Spektrofotometre küvetinin çapı (cm)

Denemenin başlangıcından itibaren elde edilen klorofil-a değerleri aşağıdaki formüle konularak deneme gruplarına ait büyüme hızları (μ = bölünme/gün) hesaplanmıştır.

$$\mu = (N_1 / N_0) \times (3.322 / t) \text{ (GUILLARD, 1973).}$$

N_1 : Başlangıç klorofil-a miktarı ($\mu\text{g/L}$)

N_0 : t zamandaki klorofil-a miktarı

T : süre

3.2.5.4. pH Ölçümleri

Araştırmada kültür ortamlarının başlangıç pH'ları 4, 5, 6, 7 ve 9 olarak ölçülmüştür.

Denemenin başlangıcından itibaren 1., 3., 6., 12. ve 24. saatlerde daha sonra günlük olarak alınan 10 ml'lik örneklerden pH ölçümleri pH metre ile takip edilmiştir.

3.2.5.5. *Spirulina platensis*'deki Selenyum Metal Birikiminin Tayini

Spirulina platensis'te Selenyum metali birikiminin belirlenmesi için, denemenin başlangıcından itibaren 1., 3., 6. ve 12. saatlerde, daha sonra 24 saatlik aralıklarla 14 gün süreyle 10 ml'lik örnekler alınmıştır. Örnekler su trombu ile vakum oluşturularak 0.45 μm göz açıklığındaki filtre kağıtlarıyla (GF6) süzölmüş ve önceden metallere arındırılmış olan falkon tüplerine aktarılmıştır. Tüplere % 65 saflıktaki HNO_3 'ten 5 ml ilave edilmiş ve *Spirulina platensis*'in çözünmesi sağlanmıştır. Berraklaşan örnekler 125mm çaplı mavi bant filtre kağıdından süzülerek, çözünen ortam saf su ilavesiyle 25 ml'ye tamamlanmıştır. Analiz için hazırlanan örneklerin Mustafa Kemal Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvar'ında bulunan ICP-AES cihazında analizleri yapılmıştır. Cihaz Selenyum metali belirlemesi için dört farklı konsantrasyonda hazırlanan (1, 2, 5 ve 10 ppm'lik) standartlar ile kalibre edilmiş, daha sonra 196,026 nm dalga boyunda okunmuştur. 0,37 - 18500 ppm okuma hassasiyeti aralığında veriler elde edilmiş, elde edilen sonuçlar $\mu\text{g/g}$ yaş ağırlık olarak hesaplanmıştır.

3.2.5.6. Verilerin Değerlendirilmesi

Deneme sonunda elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiş ve gruplar arası farklılıklar Duncan, Tukey, SNK çoklu karşılaştırma testleri ile belirlenmiştir. Çoklu karşılaştırma testleri SPSSX 10.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

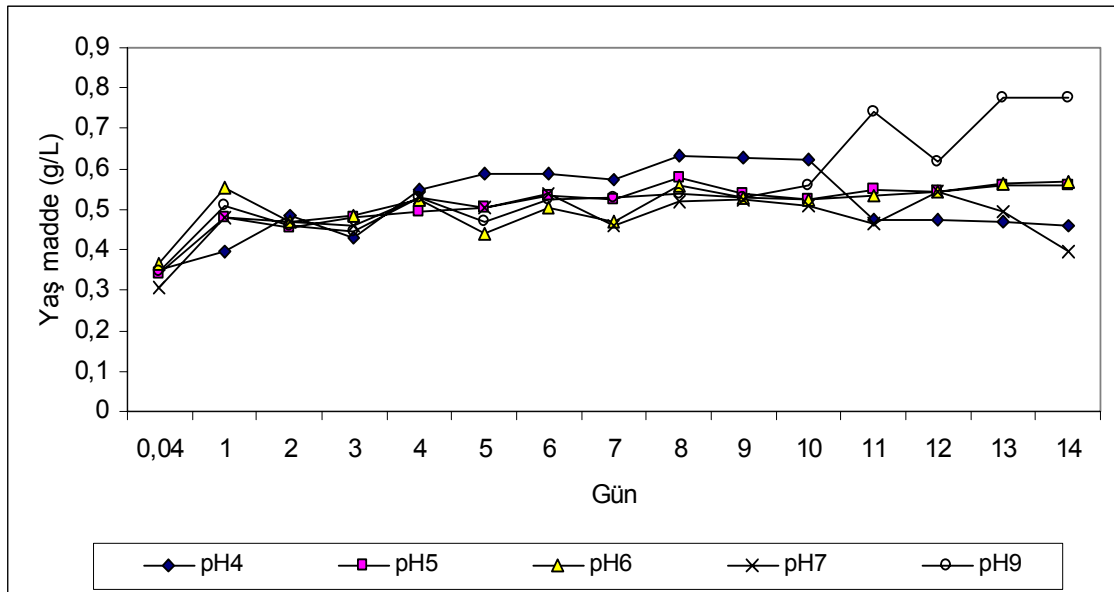
4.1. Bulgular

Yapılan ön denemelerde uygulanan Selenyum dozlarının (200 mg/L, 300 mg/L, 400 mg/L, 500 mg/L, 600 mg/L ve 700 mg/L) *Spirulina platensis*'in hücre sayısı ve optik densitesine etkileri 7 gün süre ile takip edilmiştir. Biyomasın % 50'sini etkileyen Se derişimi 600 mg/L olarak belirlenmiştir. Asıl deneme bu derişimde Se içeren ortamlarda yürütülmüştür.

Laboratuvar koşullarında iki farklı ışık şiddetinde (1500-3000 lux), Sodyum Selenit içeren (600 mg/L Selenyum) ve farklı başlangıç pH değerlerinde (4, 5, 6, 7) 14 gün süre ile kültüre alınan *Spirulina platensis*'in; yaş (g/L) ve kuru madde (%), filament sayısı (filament/ml), büyüme hızı (μ =bölünme/gün), klorofil-a miktarı (μ g/L), pH değışimleri ve Se birikimi (μ g/g yaş ağırlık) parametreleri takip edilmiştir.

4.1.1. İki Farklı Işık Şiddetinde (1500-3000 lux), Se (600 mg/L) içeren Farklı Başlangıç pH Değerlerindeki Kültür Ortamlarının Büyüme Parametrelerine Etkileri

4.1.1.1. Yaş Madde (g/L)

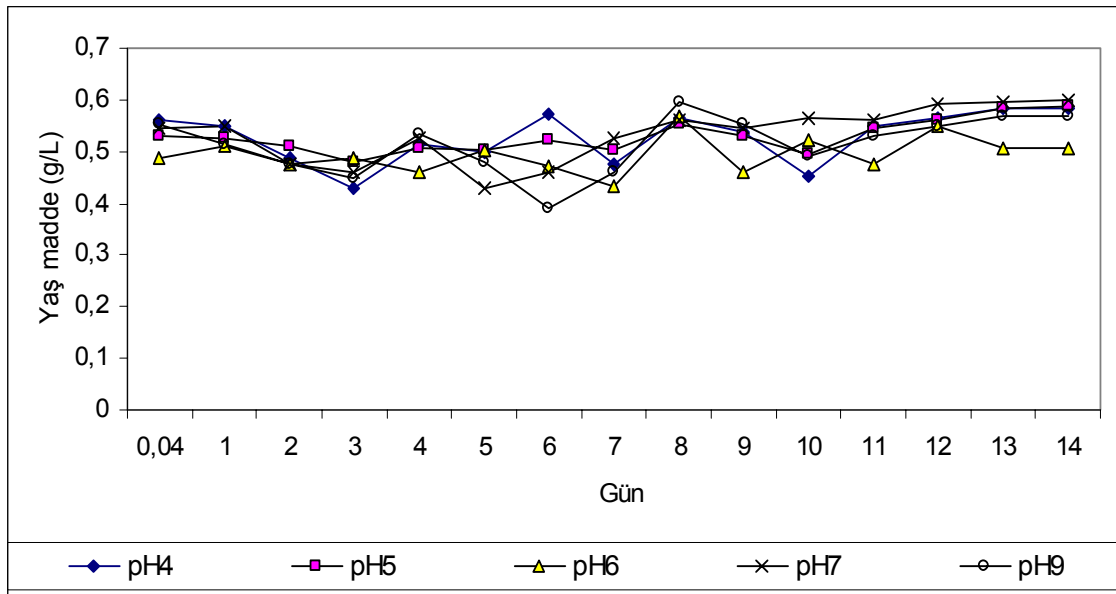


Şekil 4.1. *Spirulina platensis*'in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının yaş madde (g/L) değerleri

Spirulina platensis'in 1500 lux ışık şiddetinde pH 9 (kontrol) grubunun yaş madde miktarı denemenin başlangıcından 1 saat sonra 0,35 g/L olarak belirlenmiş, 14 gün süreyle düzenli bir büyüme göstermiş, 14. günde en yüksek değer olan 0,77 g/L değerine ulaşmıştır (Şekil 4.1). Çalışılan diğer pH gruplarının yaş madde miktarlarında da zamanla artış gözlenirse de, 14. günde kontrol grubundan daha düşük değerlerde kalmış oldukları belirlenmiştir. Bütün gruplarda ilk 1. günde yaş madde miktarları yaklaşık 1,5 katına ulaşmıştır.

Deneme süresince grupların en yüksek yaş madde miktarları kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında önemli bir farklılık olmadığı saptanmıştır ($P>0.05$).

3000 lux ışık şiddeti ve farklı başlangıç pH gruplarında *Spirulina platensis*'in yaş madde miktarlarının zamanla değişimi Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. *Spirulina platensis*'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının yaş madde (g/L) değerleri

Deneme süresince tüm grupların yaş madde miktarlarında artış ve azalmaların olduğu dalgalanmalar gözlenmiştir. Denemenin 1. saatinde pH 6 grubuna ait yaş madde miktarı 0,49 g/L değerinde iken, 14. günde ulaştığı değer 0,50 g/L olmuştur. 6. günde pH 4 grubu en yüksek değere (0,57 g/L) ulaşırken kontrol grubu en düşük değere (0,39

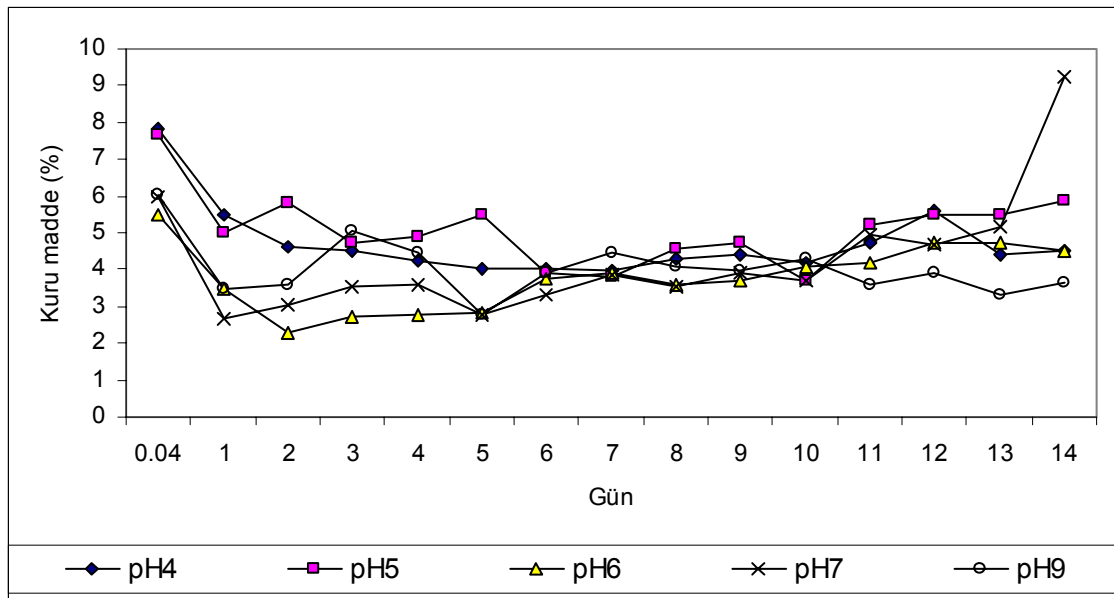
g/L) ulaşmıştır. Deneme süresince en yüksek yaş madde miktarının 14. günde pH 7 grubuna (0,69 g/L) ait olduğu tespit edilmiştir.

Deneme süresince grupların en yüksek yaş madde miktarları kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında önemli bir farklılık olmadığı saptanmıştır ($P>0.05$).

4.1.1.2. Kuru Madde (%)

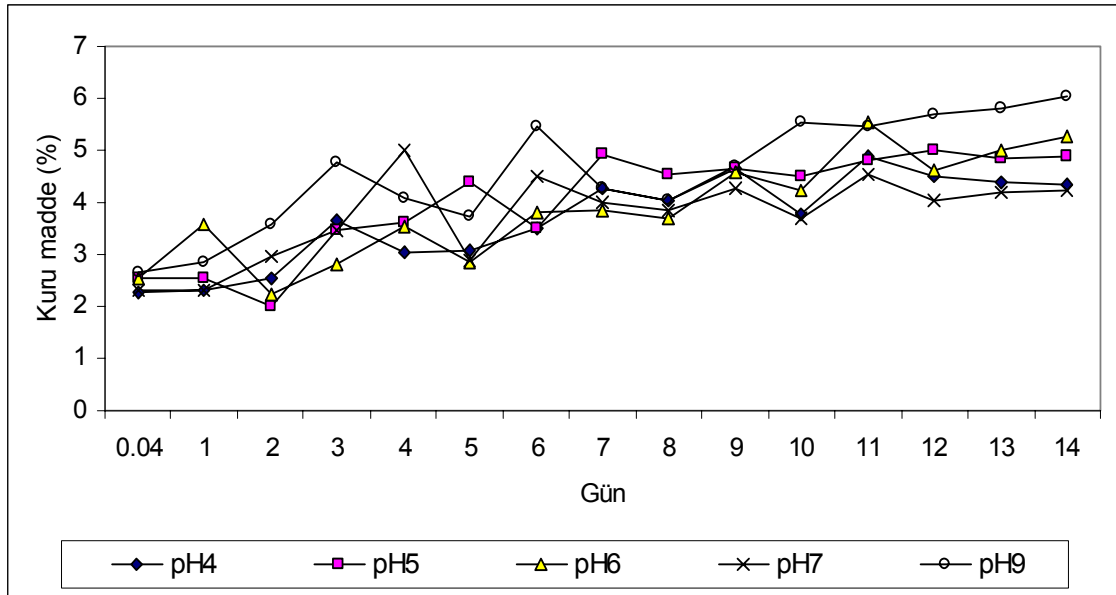
Spirulina platensis'in 1500 lux ışık şiddetinde Selenyum içeren farklı başlangıç pH gruplarının % kuru madde değerlerinin zamanla değişimi Şekil 4.3'de verilmiştir.

Deneme başlangıcından 1 saat sonra pH 4 ve pH 5 gruplarında kuru madde % değerlerinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. pH 6 ve pH 7 gruplarına ait kuru madde değerlerinin (%) kontrol grubu olan pH 9'a yakın olduğu tespit edilmiştir. Deneme süresince 6. ve 10. günler arasında tüm grupların kuru madde (%) değerlerinin birbirine yakın olduğu ve durağanlık gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.3. *Spirulina platensis*'in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının kuru madde (%) değerleri

Gruplar arasında en yüksek kuru madde (%) değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında farkın önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).



Şekil 4.4. *Spirulina platensis*'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının kuru madde (%) değerleri

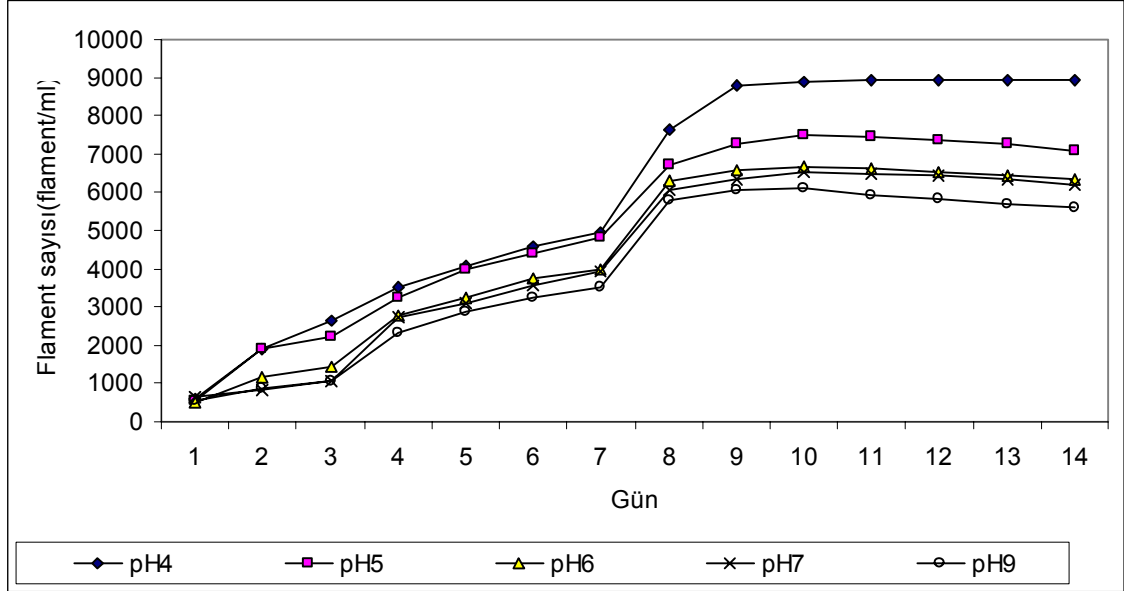
Farklı başlangıç pH grupları ve 3000 lux ışık şiddetinde *Spirulina platensis*'in kuru madde (%) miktarlarının zamanla değişimi Şekil 4.4'de verilmiştir.

Deneme süresince tüm grupların kuru madde (%) değerlerinde genel bir artış olduğu tespit edilmiştir. Denemenin 1. saatinde (0.04 gün) tüm gruplarda kuru madde (%) miktarları birbirine çok yakın değerlerde olup, pH 4'de % 2,25, pH 5'de % 2,52, pH 6'de % 2,53, pH 7'de % 2,32 ve pH 9'da % 2,65 olduğu belirlenmiştir. Deneme süresince en yüksek kuru madde (%) değerine denemenin 14. gününde pH 9 kontrol grubunda (% 6,02) ulaşılmış olduğu tespit edilmiştir. Grupların 14. günde ulaşılmış oldukları kuru madde (%) değerlerinin; pH 4 % 4,34, pH 5 % 4,89, pH 6 % 5,27 ve pH 7 % 4,22 olduğu saptanmıştır.

Gruplar arasında en yüksek kuru madde (%) değerleri istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve aralarındaki farkın önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

4.1.1.3. Filament Sayısı (filament/ml)

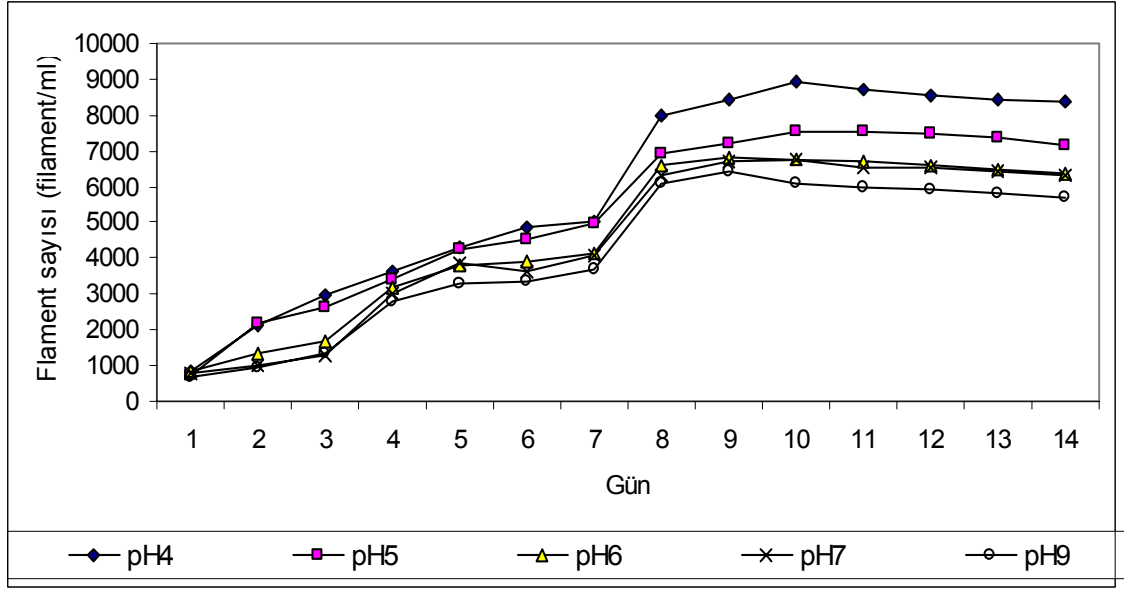
Spirulina platensis'in 1500 lux ışık şiddeti ve 5 farklı başlangıç pH'ına göre filament sayılarının (filament/ml) zamanla değişimi Şekil 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.5. *Spirulina platensis*'in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının filament sayıları (filament/ml)

Denemenin başlangıcından itibaren tüm grupların filament sayılarında 7. güne kadar düzenli bir artış gözlemlenmiştir. pH 4 grubu filament sayısı 7. günden itibaren diğer gruplardan daha yüksek değerlere ulaşmış ve 13. günde 8920 (filament/ml) değerine ulaşmış olduğu saptanmıştır. 8. günden 12. güne kadar pH 5, pH 6, pH 7 ve pH 9 gruplarına ait filament sayılarında herhangi bir değişikliğin olmadığı ve durgunluk dönemine girmiş olduğu saptanmıştır.

Deneme süresince grupların ulaştığı en yüksek filament sayıları istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).



Şekil 4.6. *Spirulina platensis*'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının filament sayıları (filament/ml)

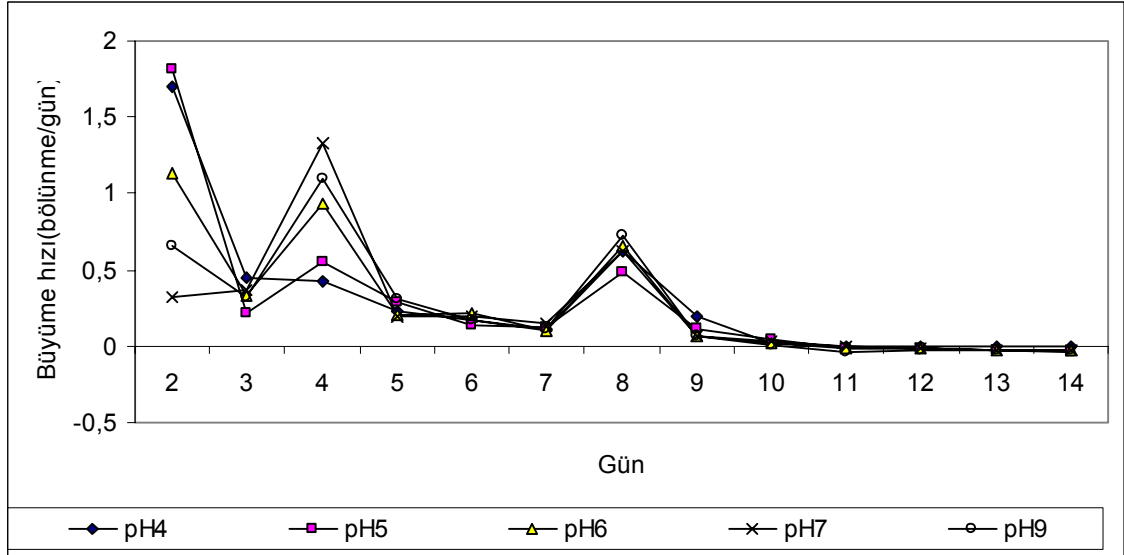
Deneme 3000 lux ışık şiddeti ve beş farklı grupta *Spirulina platensis*'in filament sayılarının zamanla değişimi verilmiştir (Şekil 4.6).

Filament sayılarında (filament/ml) deneme başlangıcından 7. güne kadar tüm gruplarda düzenli bir artış, 7. ve 8. günler arasında hızlı bir artışın olduğu tespit edilmiştir. 8. günden 10. güne kadar pH 4 ve pH 5 gruplarındaki artışlar devam ederken, diğer gruplarda denemenin sonuna kadar filament sayılarında azalma olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubu denemenin 1. gününde 659 filament/ml değerinde iken 14. günde 5696 filament/ml değerine ulaşmıştır. pH 4 grubu denemenin 1. gününde 824 filament/ml değerinde iken, 10. günde deneme süresince tüm gruplar arasında ulaşılan en yüksek değere ulaşmış 8925 (filament/ml) ve 14. güne kadar azalarak 8378 filament/ml değerine ulaştığı belirlenmiştir.

Deneme süresince grupların ulaştığı en yüksek filament sayıları istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

4.1.1.4. Büyüme Hızı (bölünme/gün)

Spirulina platensis'in 5 farklı başlangıç pH gruplarının 1500 lux ışık şiddetinde büyüme hızlarının zamanla değişimi Şekil 4.7'de verilmiştir.



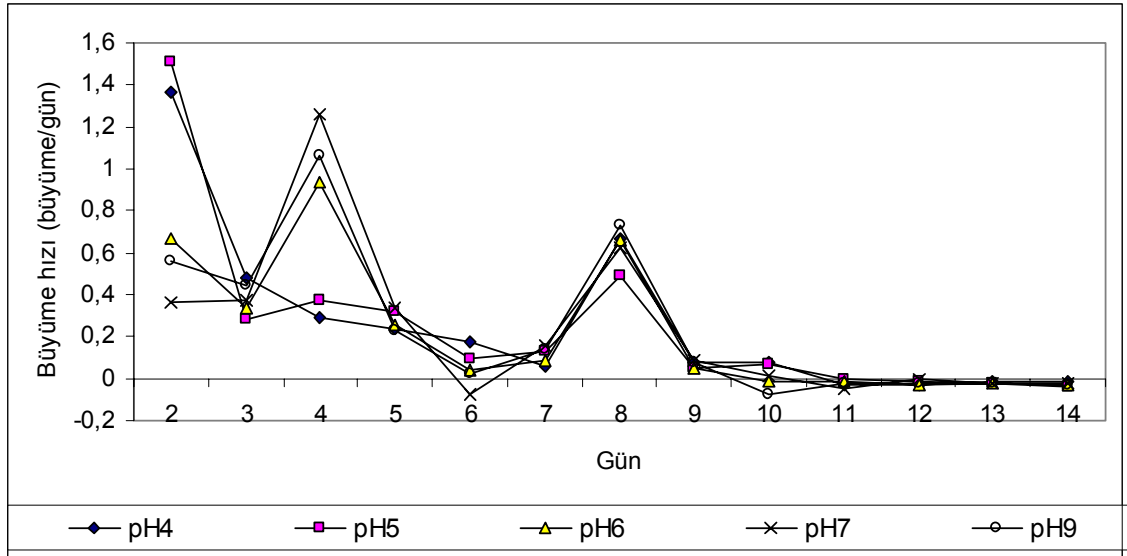
Şekil 4.7. *Spirulina platensis*'in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının büyüme hızları (bölünme/gün)

Denemenin 2. gününde pH 4 ve pH 5 gruplarının diğer gruplara göre büyüme hızlarının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. 3. günde tüm gruplarda büyüme hızı ani düşüş gösterirken, gruplar birbirine yakın değerlerde kalmışlardır. 4. ve 8. günlerde büyüme hızları pikler oluşturmuştur. 5.gün - 7.gün ve 9.gün – 14. günler arasında tüm gruplardaki büyüme hızlarının birbirlerine yakın değerlerde olduğu tespit edilmiştir.

Deneme grupları arasındaki en yüksek büyüme hızları istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

Spirulina platensis'in 3000 lux ışık ve farklı başlangıç pH gruplarında büyüme hızlarının zamanla değişimi Şekil 4.8'de verilmiştir.

Çalışılan tüm grupların büyüme hızları 2. günden 14. güne kadar genel bir azalma gösterirken, 4. ve 8. günlerde pikler gözlenmiştir. Denemenin 2. gününde pH 4 ve pH 5 grupları diğer gruplara göre büyüme hızlarının çok yüksek değerlerde olduğu tespit edilmiştir. 4. günde kontrol, pH 6 ve pH 7 gruplarının büyüme hızları sırasıyla; 1,07, 0,94 ve 1,26 büyüme/gün değerlerine ulaşırken, pH 4 ve pH 5 grupları sırasıyla; 0,29 ve 0,37 büyüme/gün değerlerinde kalmışlardır. 8. günde ise kontrol grubunun en yüksek (0,73 büyüme/gün), pH5 grubunun en düşük (0,49 büyüme/gün) büyüme hızına sahip olduğu tespit edilmiştir. 9. günden deneme sonuna kadar tüm grupların büyüme hızları durgunluk evresine girmiş ve birbirlerine çok yakın değerler almışlardır.

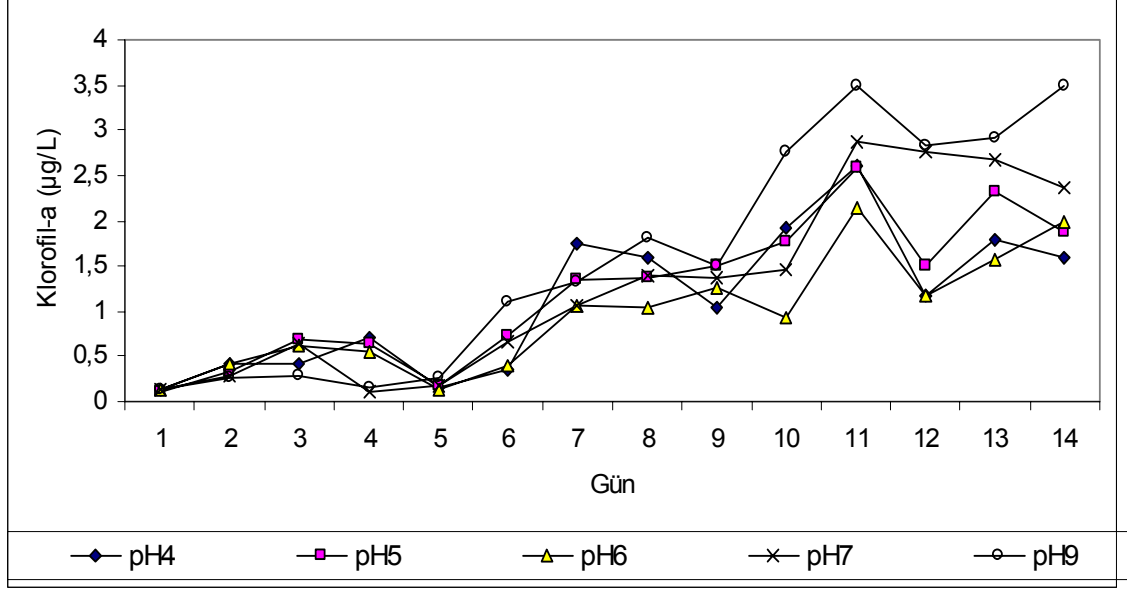


Şekil 4.8. *Spirulina platensis*'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının büyüme hızları (büyüme/gün)

Deneme grupları arasındaki en yüksek büyüme hızları istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

4.1.1.5. Klorofil-a ($\mu\text{g/L}$)

1500 lux ışık şiddetinde ve farklı başlangıç pH gruplarında *Spirulina platensis*'in klorofil-a değerinin zamanla değişimi Şekil 4.9'da verilmiştir.

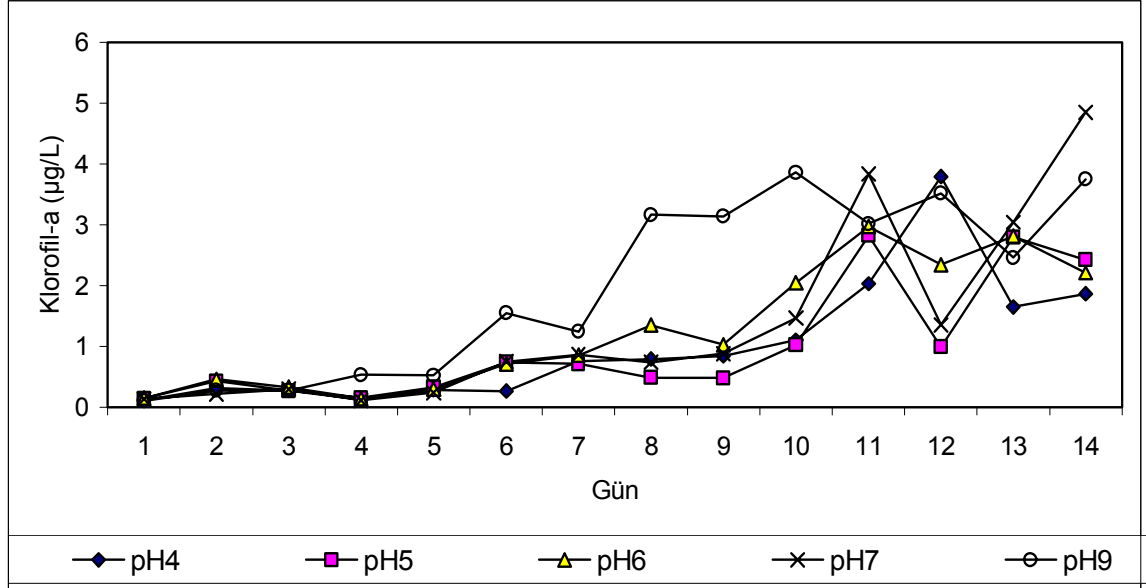


Şekil 4.9. *Spirulina platensis*'in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının klorofil değerleri ($\mu\text{g/L}$)

Deneme süresince kontrol grubunun klorofil-a değerleri zamana bağlı olarak düzenli bir artış göstermiş ve en yüksek değerine 11. günde ($3,5 \mu\text{g/L}$) ulaşmış, 12. ve 13. günlerde azalma ve durağanlık gösterse de, 14. günde yeniden artmıştır. Kontrol grubu dışındaki gruplarda deneme süresince genel artış gözlenirse de, bu artış salınımlar göstermiş ve 14. günde pH 4, pH 5 ve pH 6 gruplarında en düşük değerler tespit edilmiştir (Şekil 4.9).

Gruplar arasındaki en yüksek klorofil-a değerleri istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

3000 lux ışık şiddeti ve farklı başlangıç pH gruplarında *Spirulina platensis*'in klorofil-a değerlerinin zamanla değişimi Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10. *Spirulina platensis*'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının klorofil değerleri (µg/L)

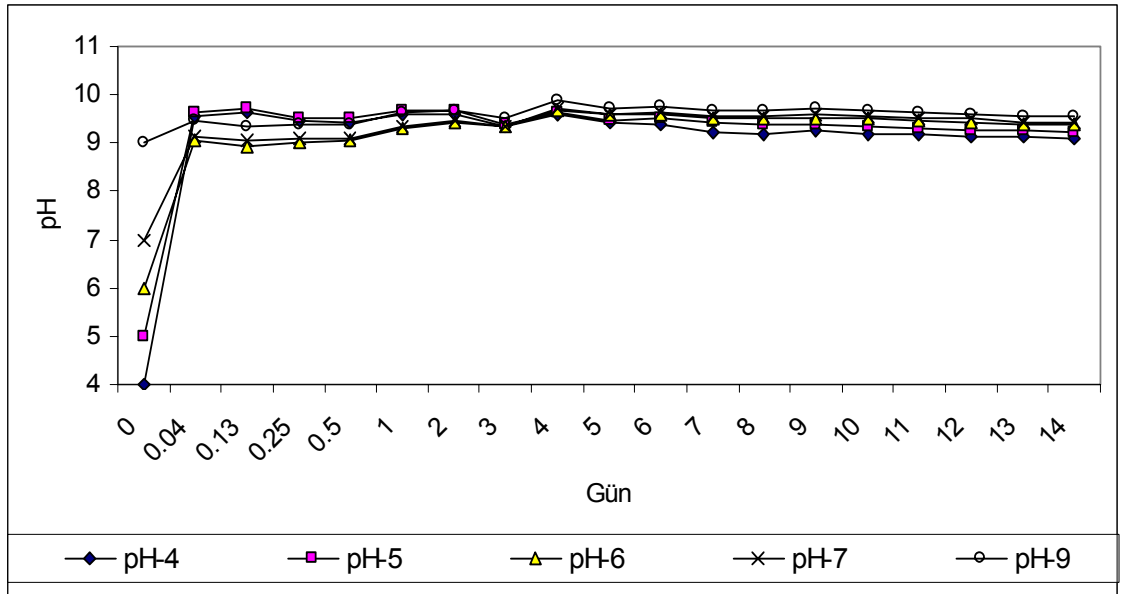
Deneme süresince tüm grupların klorofil-a değerlerinde genel bir artış olduğu tespit edilmiştir. 11. ve 13. günler arasında tüm gruplarda artışlar ve azalmalar gözlenirse de 14. günde yeniden yükselmelerin olduğu belirlenmiştir. 14. günde kontrol (pH9) klorofil-a değeri 3,75 µg/L iken, en yüksek klorofil-a değerine pH 7 grubunda (4.85 µg/L) ve en düşük klorofil-a değerine pH 4 grubunda (1,87 µg/L) ulaşılmıştır.

Gruplar arasında en yüksek klorofil-a değerleri istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve aralarında önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

4.1.1.6. pH

Şekil 4.11’de *Spirulina platensis*’in 1500 lux ışık şiddetinde ve farklı başlangıç pH gruplarındaki ortamların pH değerlerinin zamanla değişimi verilmiştir.

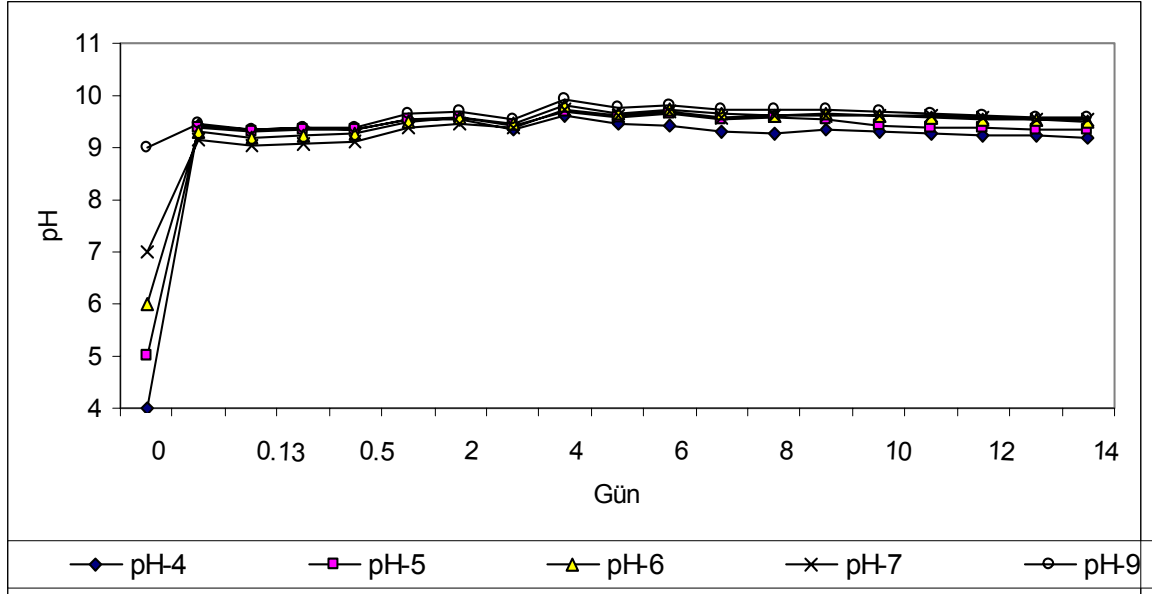
Spirulina platensis’in kültür ortam pH’ı 9’dur. Deneme başlangıç pH’ları 4, 5, 6 ve 7 olan gruplar ilk bir saat sonunda (0.04 gün), pH değerlerini kültür ortam pH’sına hızla yükseltmiş ve çalışılan tüm grupların pH’ları birbirine yakın ölçülmüştür. Deneme süresince pH 9 kontrol grubu 4. günde en yüksek değere 9,89 ile ulaşmıştır. Denemenin 14. gününde pH 9 kontrol grubu 9,54 değerinde kalırken, pH 4 9,11 değerinde ölçülmüştür.



Şekil 4.11. *Spirulina platensis*’in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının pH değerleri

Gruplar arasındaki en yüksek pH değerleri istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

Farklı başlangıç pH grupları ve 3000 lux ışık şiddetinde *Spirulina platensis*'in pH değerlerinin zamanla değişimi Şekil 4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.12. *Spirulina platensis*'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının pH değerleri

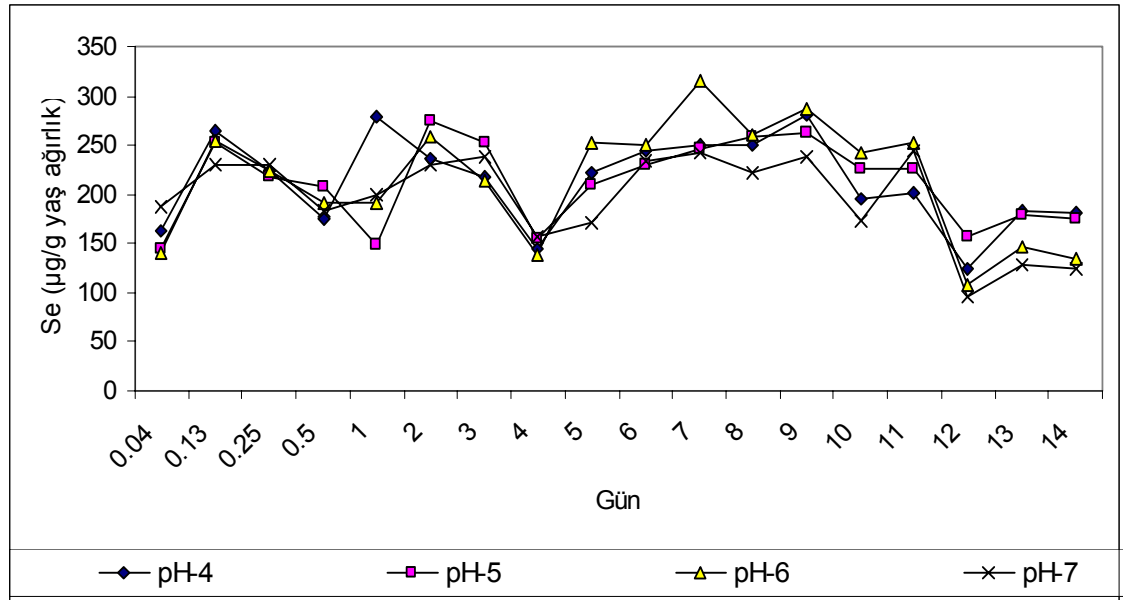
pH 9 kontrol grubunda deneme başlangıcından 1. saate kadar pH değerinde yavaş bir artış gözlenirken, diğer grupların çok kısa bir sürede başlangıç pH'larını kontrol grubunun pH'ına çok yakın seviyeye yükselttikleri tespit edilmiştir. Tüm gruplar içerisinde pH 9 (kontrol) grubu en yüksek pH değerine (9.92) 4. günde ulaşmıştır. 14. günde kontrol grubu (pH9) ve başlangıç pH değerleri 4, 5, 6, ve 7 olan grupların pH değerleri sırasıyla; 9,56, 9,2, 9,33, 9,5 ve 9,53 olarak ölçülmüştür.

Gruplar arasındaki en yüksek pH değerleri istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

4.1.2. İki Farklı Işık Şiddetinde (1500-3000 lux), Se (600 mg/L) içeren Farklı Başlangıç pH Değerlerindeki Kültür Ortamlarında *S. platensis*'de Selenyum Metali Birikimi (mg/g)

1500 lux ışık şiddeti ve farklı başlangıç pH gruplarında *Spirulina platensis*'de Selenyum birikiminin zamanla değişimi Şekil 4.13'de görülmektedir.

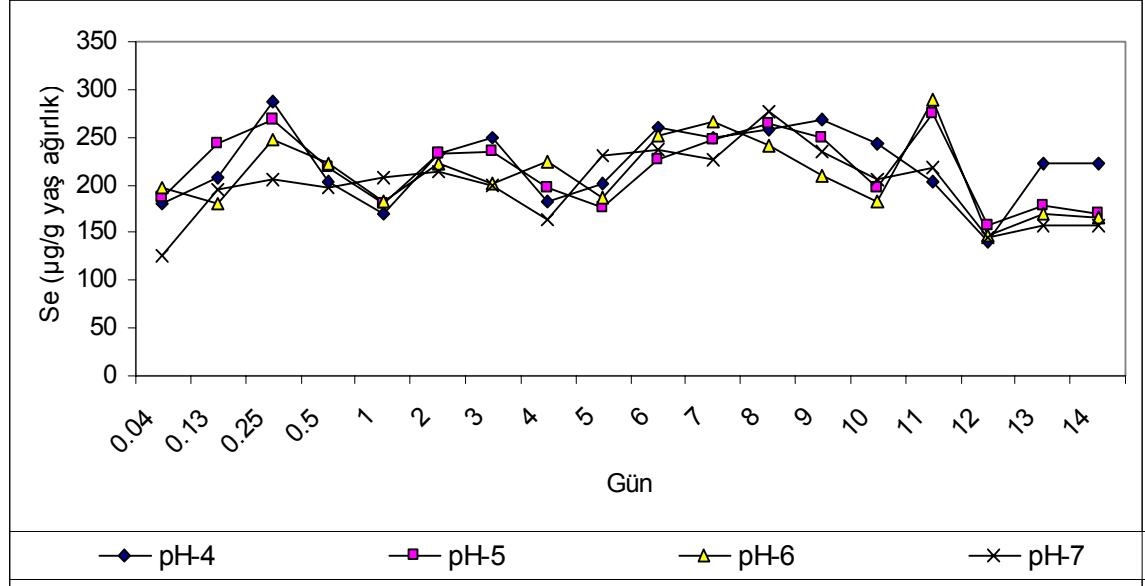
Kültür ortamına Se ilavesinden 1 saat (0.04 gün) sonra *Spirulina platensis*'de Selenyum metali birikimi incelendiğinde, başlangıç pH'sı 7 olan ortamda diğer ortamlara göre daha yüksek birikimin (188 µg/yaş ağırlık) olduğu tespit edilmiştir. Deneme başlangıcından 3 saat (0.13 gün) sonra Selenyum metali birikiminin tüm gruplarda arttığı belirlenmiştir. 6. saat (0.25 gün) ve 12. saatlerde (0.5 gün) metal birikim değerleri azalmış, 14 günlük deneme süresince birim yaş kütlede Selenyum birikimi değerlerinde artışlar ve azalmalar gözlenmiştir. Deneme süresince en yüksek Selenyum değeri 7. günde pH 6 grubunda olup, 314 µg/g yaş ağırlığa ulaşmıştır. 14. günde pH 4 grubu diğer gruplar arasında en yüksek birikime (180 µg/yaş ağırlık) ulaşırken, pH 7 grubu en düşük değeri (125 µg/yaş ağırlık) aldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.13. *Spirulina platensis*'in 1500 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının Selenyum metali birikimi (mg/g)

Gruplar arasındaki en yüksek Selenyum değerleri istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

3000 lux ışık şiddeti ve farklı başlangıç pH gruplarında *Spirulina platensis*'in Selenyum birikiminin zamanla değişimi Şekil 4.14'de verilmiştir.



Şekil 4.14. *Spirulina platensis*'in 3000 lux ışık şiddetinde, Selenyum (600mg/L) içeren farklı başlangıç pH gruplarının Selenyum metali birikimi

Kültür ortamına Sodyum Selenit ilavesinden 1 saat sonra *Spirulina platensis*'de Selenyum metali birikimi belirlenmiştir. pH 4, pH 5 ve pH 6 gruplarında birbirlerine çok yakın birikim değerleri tespit edilirken, pH 7 grubunun bu üç gruptan daha düşük birikime (126 µg/g yaş ağırlık) sahip olduğu saptanmıştır. Denemenin başlangıcından 3 saat sonra (0.13 gün) Selenyum metali birikimi tüm gruplarda artarken, en yüksek birikime pH 5 grubu (243 µg/g yaş ağırlık) ve en düşük birikime pH 6 (179 µg/g yaş ağırlık) grubu ulaşmıştır. Denemenin 11. gününe kadar Se birikim değerleri tüm gruplarda salınımlar göstermiştir. 11. günde pH 5, pH 6 ve pH 7 gruplarında artış gözlenirse de, pH 4 grubunda düşüşün 12. güne kadar devam ettiği tespit edilmiştir. Ancak 12. günden sonra başlangıç pH'ı 4 olan grubun Se birikiminin diğer gruplara göre çok fazla olduğu gözlenmiştir. 14. günde birim yaş ağırlıkta Se metalinin birikimi pH 4, pH 5, pH 6 ve pH 7 gruplarında sırasıyla 221 µg/g, 170 µg/g, 165 µg/g ve 157 µg/g ölçülmüştür.

Gruplar arasındaki en yüksek Selenyum değerleri istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

4.2. Tartışma

Mikroalgler; pH, sıcaklık, besin eksikliği, ağır metal kontaminasyonu gibi değişen ortam koşullarında farklı türde kimyasallar ve biyolojik olarak aktif bileşikler üretme potansiyaline sahip organizmalardır. Vitamin, pigment, yaş madde, protein vs. gibi maddelerin bünyelerindeki miktarları ortam koşullarına göre değişim göstermektedir (VONSHAK, 1997). *Spirulina platensis* türü, bu maddelerin elde edilmesi amacıyla üretilen mikroalg türlerindedir.

S. platensis'in bütün fotosentetik organizmalar gibi metabolik faaliyetlerinin ışık şiddetinden etkilendiği belirtilmektedir (HUANG ve ark., 2006).

Denemede uygulanan parametrelere göre gruplar Çizelge 4.1'de belirtildiği şekilde kodlanmıştır.

Çizelge 4.1. Denemede uygulanan parametrelere göre grupların kodlanması

Gruplar	Se (mg/L)	Işık şiddeti (lux)	Çalışılan ortamların başlangıç pH değerleri				
			pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 9 (Kontrol)
A	600	1500	A1	A2	A3	A4	A5
B	600	3000	B1	B2	B3	B4	B5

4.2.1. Yaş Madde (g/L)

1500 lux ışık şiddetinin uygulandığı deneme grubunda (A); Selenyum içermeyen A5 (kontrol) ortamında (Şekil 4.1) denemenin 14. günü 0,77 g/L değeri ile en yüksek yaş madde miktarına ulaşırken, Se ilaveli ortamlar arasında A1 grubunun (Şekil 4.1) denemenin 8. gününde 0,64 g/L ile en yüksek yaş madde miktarına ulaştığı belirlenmiştir.

3000 lux ışık şiddetinin uygulandığı deneme grubunda (B); B5 (kontrol) grubu denemenin 8. gününde en yüksek yaş madde miktarı olan 0,59 g/L değerine, Se ilaveli ortamlardan B4 grubunda ise (Şekil 4.2) denemenin 14. gününde en yüksek yaş madde miktarı 0,6 g/L değerine ulaşmışlardır.

1500 ve 3000 lux ışık şiddetli Selenyum içeren gruplarda en yüksek yaş madde miktarı A1 ve B4 gruplarında sırasıyla 0,64 g/L ve 0,60 g/L olarak elde edilmiş ve yaş madde miktarları arasındaki farkın önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Ancak 1500 lux ışık şiddetli A1 grubu ile 3000 lux ışık şiddetli B3 grubu arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). 1500 lux ışık şiddetinde en yüksek yaş madde miktarına A1 grubu 8. günde ulaşırken, 3000 lux ışık şiddetinde B4 grubu 14. günde ulaşmıştır.

Optimum ışık şiddetinin üzerindeki değerlerin fotosentez hızının azalmasına neden olduğu, fotoinhibasyona yol açtığı bildirilmektedir (VONSHAK, 1997). Araştırmamızda yüksek ışık şiddetinin yaş madde miktarını ve süresini etkilediği gözlenmiş olup, önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

4.2.2. Kuru Madde (%)

1500 lux ışık şiddetinin uygulandığı deneme grubunda (A); Selenyum içermeyen A5 (kontrol) grubu 3. günde (% 5,07) en yüksek (%) kuru madde değerine ulaşmıştır. A4 grubu ise denemenin 14. gününde % 9,24 ile en yüksek kuru madde yüzdesine ulaşmıştır (Şekil 4.3).

3000 lux ışık şiddetinin uygulandığı deneme grubunda (B); B5 grubu 14. günde % 6,02, B3 grubu ise 11. günde % 5,53 ile en yüksek değerlerine ulaşmışlardır.

1500 ve 3000 lux ışık şiddetinin uygulandığı gruplara ait (%) kuru madde değerleri karşılaştırıldığında; A gruplarına ait (%) kuru madde değerleri arasındaki fark önemli iken ($p<0.05$), B grubuna ait değerler arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Ancak 1500 lux (A) grubu ile 3000 lux (B) grubuna ait (%) kuru madde değerleri karşılaştırıldığında aralarındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). İki ışık şiddeti farklılığının (66 ve $144 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) kuru madde miktarı üzerinde etkili olmadığı belirlenmiştir (OLGUIN ve ark., 2001). Araştırma sonuçları kuru madde miktarı ile ışık şiddeti arasındaki etkileşim anlamında önceki çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

Işık şiddetinin artışıyla en yüksek (%) kuru madde miktarına ulaşma süresinin arttığı belirlenmiş, bu parametrenin değişimine başlangıç pH değerinin ve Se metalinin de daha etkin olduğu saptanmıştır.

4.2.3. Filament Sayısı (filament/ml)

A grubuna ait kontrol ortamında (A5) filament sayısı 11. günde 5925 filament/ml değerine ulaşılırken, A1 grubu denemenin 13. gününde en yüksek filament sayısı olan 8920 filament/ml değerine ulaşmıştır. Kültür ortamının başlangıç pH değerinin düşük olması ve Se metalinin varlığı filament sayısının artışı teşvik etmiştir.

Işık şiddetinin iki katı olduğu ortamlarda ise (B); B5 grubu en yüksek filament sayısına (Şekil 4.6) 9. günde (6423 filament/ml) ulaşabilmiştir. 10. günde; B1 grubunun filament sayısı 8925 filament/ml olup, A1 grubunun 13. gün değerine yakın tespit edilmiştir. Işık şiddetinin artışı ile oluşan stres faktörü, kültür ortamının başlangıç pH değerinin düşük olması ve Se metalinin varlığı filament sayısının artışıma neden olmuştur.

4.2.4. Büyüme Hızı (bölünme/gün)

A grubuna ait kontrol ortamında (A5), 4. günde 1,1 bölünme/gün ile en yüksek büyüme hızı tespit edilirken, A2 ortamında 2. günde 1,81 bölünme/gün değerine ulaşılmıştır.

B grupları arasında B5 ortamı 4. günde 1,06 bölünme/gün ile en yüksek değerine ulaşırken, B2 ortamına ait büyüme hızının ise 2. günde 1,51 bölünme/gün değerine ulaştığı tespit edilmiştir.

1500 ve 3000 lux ışık şiddeti farklılıkları kontrol gruplarına ait büyüme hızında bir değişikliğe neden olmazken, Se içeren ve her iki ışık şiddetinde de başlangıç pH değeri 5 olan ortamların büyüme hızını arttırdığı belirlenmiştir.

S. platensis'in farklı ışık şiddetleri ve farklı tuz konsantrasyonlarında kültüre alındığında, başlangıç uyum fazından sonra büyüme hızı ve fotosentetik aktivitenin tuz stresine cevap olarak yavaşladığını bildirmişlerdir (ZENG VE VONSHAK, 1998). Işık şiddetinin büyüme hızını belli bir şiddete kadar artırdığı, fakat doygunluk noktasından sonra büyüme hızını düşürdüğü bildirilmektedir (HUANG ve ark., 2006).

Çalışmamızda da yüksek ışık şiddetinin pH 5 değerine sahip ortam dışında, Se varlığında büyüme hızını yavaşlattığı belirlenmiştir.

4.2.5. Klorofil-a ($\mu\text{g/L}$)

Spirulina platensis'in 1500 lux ışık şiddetinde A grupları arasında A5 ortamı 11. günde 3,5 $\mu\text{g/L}$ değerine ulaşırken, Se içeren ortamlar arasında A4 grubuna ait klorofil değerinin 11. günde 2,87 $\mu\text{g/L}$ olduğu belirlenmiştir.

3000 lux ışık şiddetinde B5 ortamına ait en yüksek klorofil-a değerine 3,86 $\mu\text{g/L}$ ile 10. günde, Se içeren gruplar arasında en yüksek klorofil değerine ise 14. günde B4 grubuna ait 4,85 $\mu\text{g/L}$ değeri ile ulaşılmıştır.

SARADA ve ark., (2002); *Haematococcus pluvialis* türünün farklı pH ve yüksek tuz konsantrasyonlarında en yüksek astaksantin üretiminin pH 7 değerindeki ortamda olduğunu saptamışlardır.

Klorofil-a sentezini tek faktör olarak ışık şiddeti önemli bir şekilde etkilememiş iken, ortama Se ilavesi ve başlangıç ortam pH'nın 7 olması sentezi yaklaşık olarak iki katına çıkarmıştır.

A grubuna ait klorofil-a miktarları ile B grubu klorofil-a miktarları karşılaştırıldığında aralarındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$).

YAUGİ ve ark., (2004); *S. platensis*'in üç farklı ışık şiddetinde üre ilaveli kültür ortamlarında klorofil-a ve büyüme parametreleri karşılaştırıldığında ışık şiddetinin önemli olduğunu saptamışlardır ve bu sonuçlar çalışmamızla paralellik göstermektedir.

4.2.6. pH

Bitki yaşamı ile salınan karbonatın bikarbonata dönüşmesi ile yoğun fitoplankton patlamaları sırasında hızlı fotosentez döneminde ortamda pH'nın aniden 9 ve yukarısına çıktığı belirlenmiştir. Fitoplankton gelişimi 6,5 veya üzerindeki pH değerinde artan besin kullanılabilirliği, çözülen fosfat konsantrasyonu ile artmaktadır. Fitoplankton yoğunluğunun artması ile ortamda CO_2 azalmakta ve ortam bazik duruma geçmektedir. Yapılan çalışmalar pH değerinin fitoplankton patlamaları sırasında arttığını saptamıştır (BOYD, 1979).

Ortamdaki metal alım mekanizması her metale göre değişebildiği gibi ortamın pH, tuzluluk, ışık şiddeti, ısı, oksijen miktarı, ligand varlığı vb. çeşitli fizikokimyasal koşullara bağlı olarak da değiştiği ileri sürülmektedir (WELSS ve ark., 1983).

Fitoplanktonik organizmaların gelişmelerini etkileyen en önemli parametrelerden biri ortam pH'ı ve çözünürlüğüdür. Bu iki faktör ortamdaki metallerin alınabilir forma geçmesini veya uzaklaşmasını sağlar. Çalışmalarda pH değerlerinde aniden olan artışlar fitoplanktonun ortamdaki metali alabildiği formda alma çabasının bir sonucu olarak ligand benzeri metabolitler sentezlemesidir (IŞIK, 2007).

Bu çalışmada; *S. platensis*'in farklı pH değerleri ile oluşturulan kültür ortamlarının pH'ları, denemenin başladığı ilk bir saat içerisinde aniden her iki ışık şiddetinde de (A-B) bu türün optimal ortam pH değeri olan 9'a ulaşmıştır.

Fitoplankton türüne, metalin yapısına ve formuna bağlı olmaksızın tüm çalışmalarda pH değerinin aniden organizmanın istediği pH değerine yükseldiği bildirilmektedir (BOYD, 1979). Bu çalışma sonuçları da önceki çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

4.1.7. Selenyum Metali Birikim Miktarı (mg/g)

A grubuna ait tüm ortamlarda Se birikim miktarı deneme süresince takip edildiğinde dalgalanmaların olduğu gözlenmiş, en yüksek Se birikimi A3 grubunun 7. gününde tespit edilmiştir.

B grubuna ait ortamlardaki Se birikimlerine bakıldığında en yüksek birikimin denemenin 0.13. gününde B1 grubunda olduğu belirlenmiştir.

A ve B gruplarına ait en yüksek Se birikimleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

LI ve ark., (2005); *S. platensis*'in kültür ortamında Cr (III) metalinin bulunması durumunda; metal alım mekanizmasını incelemişler ve pH'ın sıcaklık, ışık, hücre konsantrasyonu gibi parametreler arasında en önemli faktör olduğunu öne sürmüşlerdir.

LINDSTROM, (1983) çalışmasında; organik maddece zengin (humik, azotlu vb.) göllerde alınabilir Se formunun daha yüksek olduğunu, asidik göllerde ise ($pH < 5$) alınabilir Se'un daha düşük miktarlarda olduğunu tespit etmiştir.

S. platensis'in kültür ortamında yüksek miktarda Na_2SeO_3 bulunduğunda, Se^{4+} 'nın Se^0 formuna indirgenmediğini ve hücre yüzeyinde tutunduğunu ileri sürmüşlerdir (PRONINA ve ark., 2002). Kültür ortamındaki toksik Selenyum (Se^{4+}) suda çözünmeyen Se^0 formuna dönüşerek azaldığından, *S. platensis*'in yüksek Selenite dirençli olduğu bildirilmektedir (LI ve ark., 2003).

Çalışmamızda her iki ışık şiddetinde de Se birikimi gözlenmiş, Se birikimine ışık şiddeti, pH ve EDTA varlığının etkili olduğu belirlenmiştir. Düşük ışık şiddetinde, düşük pH değerlerinde denemenin ilk saatinde Se birikimi az iken yüksek ışık şiddetinde aynı sürede düşük pH değerli ortamlarda Se birikiminde daha etkili olmuştur.

RANGSAYATORN ve ark., (2002); *S. platensis*'in kültür ortamında Cd metali bulunduğu, büyümede pH değişiminin çok etkili olduğunu, bu metalin alg tarafından alınmasında pH 7 değerinin optimum olduğunu birikim mekanizmasının çok hızlı yürüdüğünü ilk 5 dakikada metal alımının % 78'inin tamamlandığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda ilk 3 saatlik deneme süresinin birinci saatinde; A1 grubunda Se metalinin % 62'si alınırken, B1 grubunda % 87'sinin biriktiği belirlenmiştir. Sonuçların metal alımı ile ilgili diğer çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Son yıllarda, mikroorganizmaların besin kaynağı olarak kullanılması ve bu organizmalardan protein üretimi konusunda yapılan çalışmalar büyük bir hızla sürdürülmektedir. Mavi-yeşil alglerden *Spirulina platensis* zengin protein (%60-70 yaş ağırlık) ve mineral içeriğinden dolayı çok eski zamanlardan beri sağlıklı besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca düşük derişimlerde nükleik ve aminoasitlere sahip olduğundan FAO'nun önerdiği besinler arasındadır (BECKER, 1994). *Spirulina* bitkisel protein, esansiyel vitaminler, antioksidant beta-karoten, nadir bulunan esansiyel yağ asidi olan gamalinoleikasit (GLA), sülfolipitler, glikolipitler, polisakkaritler gibi bitkisel besleyiciler ve Manganez, Krom, Selenyum v.b. eser metaller içermektedir (FOX, 1996).

İnsan sağlığı açısından Selenyum'un büyük önem taşıdığı (CASES ve ark., 1999), bağışıklık sistemini kuvvetlendirmesi yanında birçok hastalığı önleyici etkisinin olduğu (JR and GRAY, 1998; RAYMAN, 2000), diyetteki Selenyum miktarının (90 µg/gün), selenyumun kimyasal yapısına ve faydalanılabilir formuna bağlı olarak değişkenlik gösterdiği ileri sürülmektedir (ŞİMŞEK ve ark., 2004).

Yetiştiriciliği kolay olan, geniş sıcaklık aralığında tolerans gösteren *S. platensis*'in kültür ortamının sıcaklığı ve ışık şiddetleri değiştirilerek büyüme oranı ve kuru madde ağırlığı arttırılmış (LI ve ark., 2003), Selenyum metali ile zenginleştirilmesi çalışmaları yapılmış (PRONINA ve ark., 2002), Se ile zenginleşmiş *Spirulina platensis* biyomasında selenyum dağılımı ve kimyasal kompozisyonu araştırılmıştır (HUANG ve ark., 2006).

S. platensis' in uygun büyüme hızında, kültür ortamında bulunan Selenyum'u bünyesine alabilmesinin; metal alım mekanizması, ortamın fiziko-kimyasal parametreleri, metalin derişimi ve çözünürlüğü, metal alım formu, ışık şiddeti, ortamın pH değeri gibi çok sayıda parametreyle ilişkili olarak değişebileceği düşünüldüğünde:

1. *Spirulina platensis* için efektif Selenyum metali dozunu belirlemek amacıyla ön deneme oluşturulmuş (28 ± 1 °C, 2000 lux, başlangıç pH 9, 200 mg/L, 300 mg/L, 400 mg/L, 500 mg/L, 600 mg/L ve 700 mg/L Se⁴⁺), 600 mg/L Se⁴⁺ içeren ortam efektif doz olarak belirlenmiştir.

2. Yüksek ışık şiddeti *S. platensis*'in yaş madde miktarını ve en yüksek yaş madde miktarına ulaşma süresini olumsuz etkilemiştir.

3. Farklı ışık şiddetlerinin *S. platensis*'in % kuru madde miktarları üzerinde önemli bir fark yaratmadığı, ışık şiddeti artınca daha yüksek % kuru madde miktarına ulaşma süresinin uzadığı, bu parametrenin değişimine başlangıç pH değerinin ve ortamdaki Se konsantrasyonunun daha etkili olduğu belirlenmiştir.

4. Düşük başlangıç pH'ı ve 600 mg/L Se⁴⁺ içeren kültür ortamları *S. platensis*'in, filament sayısının artışı teşvik etmiş, ışık şiddetinin artmasından kaynaklanan stres faktörü bu parametreler ile engellenmiştir.

5. Işık şiddeti farklılıkları kontrol gruplarında büyüme hızını etkilememiştir. Başlangıç pH değerleri düşük olan ve 600 mg/L Se⁴⁺ içeren kültür ortamlarında *S. platensis*'in büyüme hızları kontrol gruplarına göre artmış, iki farklı ışık şiddeti için de en büyük büyüme hızına başlangıç pH değeri 5 olan ortamlarda ulaşılmıştır.

6. Kontrol grupları ışık şiddeti farklılığı yönünden karşılaştırıldığında; ışık şiddetinin iki katı artmış olması klorofil sentezini etkilememiştir. Kültür ortamında Se miktarı ve başlangıç pH değeri optimumdan uzaklaştığında, sentez ışık şiddetinden etkilenmekte ve artmaktadır.

7. *S. platensis* kültür ortamlarının başlangıç pH değerleri denemenin ilk 1. saatinde ışık şiddetinden bağımsız olarak çalışan alg türünün optimum pH'sına yakın değerlere aniden yükselmiştir.

8. Her iki ışık şiddeti etkisinde de Selenyum metali birikimi belirlenmiş, bütün çalışılan ortamlarda ilk 1. saat içerisinde belirgin bir birikimin olduğu saptanmıştır. *S. platensis*'in Se alımına ışık şiddeti artışı ve düşük başlangıç pH değeri pozitif bir etki yapmıştır.

Sonuç olarak;

Bu çalışmanın amacı; anti-oksidant, yaşlanmayı geciktiren ve savunma mekanizmasının güçlenmesinde etkili olan, çok sayıda hastalık için alternatif olarak öne sürülen *S. platensis*'in kültür ortamında Se metali bulunduğunda, farklı ışık şiddetleri ve başlangıç pH'larında, büyüme parametrelerine etkisinin takibi ve organik Selenyum'ca zenginleştirilmesidir. Algin büyüme parametreleri stres faktörleri ile değişim göstermiş, Se birikimi kısa sürede gerçekleşmiştir. Ancak *S. platensis*'in fizyolojisi, biyokimyası

ve birikim mekanizmasının aydınlatılmasında daha detaylı çalışmaların devam etmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- ANDERSON, M. A., and MOREL, F. M., 1982. The influence of Aqueous Iron Chemistry on the Uptake of Iron by the Coastal Diatom *Thalassiosira weissflogii*. **Limnol. Oceanogr.**, 27:789-813
- BECKER, W. E., 1994. **Microalgae-Biotechnology and Microbiology**. Cambridge Univ. Press.
- BECKER, W. E., and VENKATARAMAN, L. V., 1980. Productin and Processing of Algae, in Pilot Plant Scale Experiences of the Indo – **German Project, Algal Biomass**, ed. G. Shelef and C. J. Soeder, 35-49.
- BELOKOBYSKY, A. I., GINTURİ, E. I., KUCHAVA, N. E., KİRKEŞALİ, E. I., MOSULİŞVİLİ, L. M., FRONTASYEVA, M. V., PAVLOV, S. S., AKSENOVA, N. G., 2004. Accumulation of Selenium and Chromium in the Growth Dynamics of *Spirulina platensis*, **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Vol. 259, No. 1 65.68.
- BOROWITZKA, M.A., 1988. Vitamins and Fine Chemicals from Microalgae, **Microalgae Biotechnology**. Cambridge Univercty Pres, Cambridge, 476 p153-196.
- BOYD, C. E., 1979. Water Quality in Warmwater Fish Ponds. **Auburn University Agricultural Experiment Station**.
- CASES, J., PUIG, M., CAPORICCIO, B., BAROUX, B., BACCOU, J.C., BESANCON, P., ROUANET, J.-M., 1999. Glutathione-Related Enzyme Activities in Rats Reciving High Cholesterol or Standard Diets Supplemented with two Forms of Selenium. **Food Chem.**65, 207-211.
- CHEN, T., ZHENG, W., WONG, Y. S., YANG, F., BAI, Y., 2005. Accumulation of Selenium in Mixotrophic Culture of *Spirulina platensis* on glucose. **Bioresource Technology**.
- CHOJNACKA, K., CHOJNACKI, A., GORECKA, H., 2004. Trace Element Removal by *Spirulina sp.* from Copper Smelter and Refinery Effluents, **Hydrometallurgy**. 73: 147-153.
- CHOJNACKA, K., CHOJNACKI, A., GORECKA, H., 2005. Biosorption of Cd^{+3} , Cd^{+2} and Cu^{+2} Ions by Blue-Green Algae *Spirulina sp.*: Kinetics, Equilibrium and the Mechanism of the Process. **Chemosphere** 59: 75-84.
- CİRİK, S., GOKPINAR, Ş., 1993. Plankton Bilgisi ve Kültürü, **Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları**, No: 47.
- COLLA, L. M., REINEHR, C. O., REICHERT, C., COSTA, J. A. V., 2007. Production of Biomass and Nutraceutical Compounds by *Spirulina platensis* under Different Temperature and Nitrogen Regimes. **Bioresource Technology**, Volume 98, Issue 7 , Pages 1489-1493.
- FEDKOVIC, Y., ASTRE, C., PINGUET, F., GERBER, M., YCHOU, M., AND PUJOL, H. 1993. *Spiruline* et cancer. In: Doumenge, F., Durand-Chastel, H., Toulemont, A., eds. *Spiruline* algue de vie. Musée Océanographique. **Bulletin de l'Institut Océanographique Monaco**. Numéro spécial 12:117-120.
- FOX, D., 1996. Pub. By Editions Edisud, La Calade, R.N.7, 13090 **Aix-en-province**, France.

- GUILLARD, R. R. L., 1973. Division Rates in Handbook of phycological Methods (J. R. ETEIN editor). **Culture Methods and Growth Measurements**, Chambridge Universty Pres, Chambridge, pp.289-311.
- HENRIKSON, R., 1993. Microalga *Spirulina*. **Oikos Pharmaceuticals**, C/San Pedro, 29640 Fuengirola, Malaga Costa del Sol, Spain.
- HUANG, Z., GUO, B. J., WONG, R. N. S., JIANG, Y., 2006a. Characterization and Antioxidant Activity of Selenium-Containing Phycocyanin isolated from *Spirulina platensis*, **Food Chemistry**.
- HUANG, Z., ZHENG, W. J., YANG, F., GUO, B. J., 2006b. Chemical Composition and Selenium Distribution in Selenium Enriched *Spirulina platensis* Biomass. **Chemistry of Natural Compound**, Vol. 42, No. 6.
- IŞIK, O., SAYIN, S., HIZARCI, L., OZTÜRK, M., 2007. Bioavailability of different Iron Amounts and Speciations, Inorganic and edta-iron Complex for *Emiliania huxleyi* (prymnesiophyceae). **Parlar Scientific Publications**. vol.16 no.7.
- JR, G.F.C., GRAY, W. P., 1998. Chemopreventive Agents: Selenium. **Pharmacol. Ther.** 79, 179-192.
- KAY, A., 1991. Microalgae as Food and Supplement. In Critical Reviews in Food Science and Nutr. 30(6): 555-573. USA.
- LI, Z. Y., GUO, S. Y., LI, L., 2003. Bioeffects of Selenite on the Growth of *Spirulina platensis* and its Biotransformation. **Bioresource Technology**, 89:171-176.
- LI Z. Y., GUO S. Y., LI L., 2005. Study on the Process, Thermodynamical Isotherm and Mechanism of Cr(III) Uptake by *Spirulina platensis*. **Journal of Food Engineering**, Vol. 75, pp. 129-136.
- LI, Z. Y., GUO, S. Y., LI, L., CAI, M. Y., 2007. Effects of Electromagnetic Field on the Batch Cultivation and Nutritional Composition of *Spirulina platensis* in an air-lift photobioreactor, **Bioresource Technology** Volume 98, Issue 3 , Pages 700-705.
- LINDSTROM, K., 1983. Selenium as a Growth Factor for Plankton Algae in Laboratory Experiments and in some Swedish. **Journal Hydrobiologia** Vol. 101, No:1-2 p.p 35-47.
- MOSULISHVILI, L. M., KIRKESALI, E. I., BELOKOBYSKY, A. I., KHIZANISHVILI, A. I., FRONTASYEVA, M. V., PAVLOV, S. S., GUNDORINA, S. F., 2002. Experimental Substantiation of the Possibility of Developing Selenium- and Iodine- containing Pharmaceuticals Based on Blue-Green *Spirulina platensis*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 30: 87-97.
- NALIMOVA, A. A., POPOVA, V. V., TSOGLIN, L. N., PRONINA, N. A., 2005. The Effects of Copper and Zinc on *Spirulina platensis* Growth and Heavy Metal Accumulation in Its Cells. **Russian Journal of Plant Physiology**, Vol. 52 No. 2 pp. 229-234.
- OLGUIN E. J., GALICIA S., GUERRERO O. A., HERNANDEZ E., 2001. The Effect of Low Light Flux and Nitrogen Deficiency on the Chemicalcomposition of *Spirulina* sp. (Arthrospira) Grown on Digested Pigwaste. **Bioresource Technology** 77: 19-24.
- PARSON, T. R., and 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.

- PRONINA N. A., KOVSHOVA, Y. I., POPOVA, V. V., LAPIN, A. B., ALEKSEEVA, S. G., BAUM, R. F., MISHINA, I. M., TSOGLIN, L. N., 2002. The Effect of Selenite Ions on Growth and Selenium Accumulation in *Spirulina platensis*.
- RAYMAN, M.P., 2000. **The Importance of Selenium to Human Health**. Lancet 356, 233-241.
- RANGSAYATORN N., UPATHAM E. S., KRUAETRACHUE M., POKETHITYOOK P., LANZA G. R., 2002. Phytoremediation Potential of *Spirulina* (Arthrospira) *platensis*: Biosorption and Toxicity Studies of Cadmium. **Environmental Pollution** 119: 45-53.
- RAYMAN, M. P., 2000. **The Importance of Selenium to Human Health**. Lancet 356, 233-241.
- RICHMOND, A., 1986. **Microalgal Mass Culture**. CRC Press, INC. Boca Raton, Florida. 285-455.
- RICHMOND, A., 1992. **Micro-algal Biotechnology, Spirulina**, Cambridge University Pres, Cambridge.
- SANDSTROM, P. A., MURRAY, J., FOLKS, T. M., DIAMOND, A. M., 1998. Antioxidant Defenses Influence HIV-1 Replication and Associated Cytopathic Effects. **Free Radical Biol. Medicine** 24, 1485-1491.
- SARADA, R., TRIPATHI, U., RAVISHANKAR, G. A., 2002. Influence of Stress on Astaxanthin Production in *Haematococcus pluvialis* Grown under Different Culture Conditions. **Process Biochemistry** 37 623-627.
- SAYDAM, A. C., ŞENYUVA, H. Z., POLAT, I., CONK DALAY, M., 2001. Sahra Tozlarının Denizlerde Alg Patlamasına Etkisi. **Su Ürünleri Dergisi** J. Fish. Aquat. SCI. İzmir, Bornova. 18 (1); özel sayı 25-32.
- SESHADRI, C.V., 1992. Some Experiences in *Spirulina* Feding to Village Children, C.V. and N. Jeeji Bai (eds.) *Spirulina*, **ETTA Nat. Symp. MCRC**, Madras-INDIA.
- SCHEUER, J. P., 1981. Marine Natural Products, **Chemical and Biological Perspectives**, Volume IV. Academic Pres, Jovanovich Publishers.
- SOLÍSIO, C., LODÍ, A., TORRE, P., CONVERTÍ, A., BORGHÍ, M. D., 2006. Copper removal by dry and re-hydrated biomass of *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, Volume 97, Issue 14 , Pages 1756-1760.
- ŞİMŞEK A., SARI, F. ve ARTIK, N., 2004. Selenyumun İnsan Beslenmesi ve Sağlığı Açısından Önemi. **Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknik Dergisi** 5(2):245-251.
- TOMASELLI, L., 1987. Physiology of Stres Response in *Spirulina spp*. *Algae of Life*, **Bulletin de L'Institut Oceanographique**, No: 12, Monaco.
- VAN HILLE, R. P., BOSHOFF, G. A., ROSE, P. D., DUNCAN, J. R., 1999. A Continuous for the Biological Treatment of Heavy Metal Contaminated Acid Mine Water. Resources, **Conservation and Recycling**, Vol.27 pp.157-167.
- VONSHAK, A., 1997. **Spirulina platensis (Arthrospira) Physicology, Cell Biology and Biotechnology**. ISBN 0-7484-9674-3. Ben Gurion University, Israel
- WANG, W. X., DEÍ, R. C. H., 2001. Influences of Phosphate and Silicate on Cr(VI) and Se(IV) Accumulation in Marine Phytoplankton, **Aquatic Toxicology**, 52: 39-47.
- WELLS, M. L., ZORKIN, N. G., LEWIS, A. G., 1983. Bioavailability and Bioaccumulation of Iron in the Sea (W. G. SUNDA editor). **The Biogeochemistry of Iron in Seawater, John Wiley & Sons Ltd, Baffins Lane, Chichester, West Sussex PO19 1 UD, England**, 41-85.

- YAGUI, C. O. R., DANESI, E. D. G., CARVALHO, J. C. M., SATO, S., 2004.
Chlorophyll Production From *Spirulina platensis*: Cultivation with Urea Addition
by Fed-Batch Process. **Bioresource Technology** 92: 133–141.
- ZENG M.T., VONSHAK A., 1998. Adaptation of *Spirulina platensis* to Salinity-Stress,
Comparative Biochemistry and Physiology Part A 120: 113–118.

ÖZGEÇMİŞ

20.11.1980 yılında Tarsus/Mersin’de doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Tarsus’ta tamamladım. 2000 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesini kazandım. 2004 yılında Su Ürünleri Mühendisi ünvanını alarak mezun oldum. Şubat 2005’de Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladım.

Yayınları ve Araştırmalar

1. Proje: “Farklı Krom Konsantrasyonlarına Maruz Bırakılan Tilapia (*Oreochromis aureus*) Yavrularında Krom Metalinin Birikimi Üzerine Bir Araştırma” MKÜ, proje no: 05 E 0102, Yardımcı Araştırmacı
2. “*Spirulina platensis* (CYANOPHYTA)’in Gelişimine Selenyum’un Etkisi” Türk Sucul Yaşam Dergisi; Editörler: Yılmaz EMRE, Uysal YILMAZ, Yıl: 3-5 Sayı: 5-8, 490-495.