



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

Proje Başlığı

**Potasyum, Çinko ve Magnezyum ile zenginleştirilmiş *Spirulina platensis*'in
büyüme verimliliği ve biyokimyasal içeriğinin Belirlenmesi**

Proje No:
FBA-2020-12786

Proje Türü
Bireysel Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Oya IŞIK

Araştırmacının Adı Soyadı
Doç. Dr. Leyla USLU
Lisans Öğrencisi: Cabbar GökbeY GÖKŞEN

Temmuz 2021

ADANA

TEŞEKKÜR

Bazı mikroalg türlerinin hücre içinde yüksek miktarda biriktirdikleri değerli maddeler mikroalgal biyoteknolojiye olan ilgiyi artırmıştır. Bu amaçla farklı alg türleri ile bunlardan elde edilen kıymetli metabolitleri yararlı bir şekilde insanlık yararına kullanabilmek amacıyla çalışmalarımıza devam etmekteyiz. FBA-2020-12786 “**Potasyum, Çinko ve Magnezyum ile zenginleştirilmiş *Spirulina platensis*’in büyüme verimliliği ve biyokimyasal İçeriğinin Belirlenmesi**” isimli projemize maddi desteğini esirgemeyen Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi’ne teşekkürü bir borç biliriz.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE YÖNTEM	4
3. BULGULAR	7
4. KAYNAKLAR	12

ÖZET

Spirulina'nın insan sağlığında destek gıda ve ziraat alanında biyogübre olarak kullanımında farklı oranlarda Çinko, Magnezyum, Potasyum elementleri ile zenginleştirilerek besleyici değeriinin artırılması amacıyla planlanan ve önerilen proje çalışmasında *Spirulina platensis* dışarı ortamda havuzlarda kültüre alınmış ve büyüme grafikleri, ürün verimliliği ve protein değeri belirlenmiştir. Çalışmada en iyi büyüme farklı elementlerin karışımı olan grupta belirlenmiş ancak en yüksek protein içeriği %63.80 ile 5 mg Zn içeren grupta belirlenmiştir. Kontrol grubunda protein içeriği %63.04 iken en düşük protein miktarı, büyümenin en iyi olduğu farklı element gruplarının karışımı olan havuzda %45.23 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Spirulina platensis*, çinko, potasyum, magnezyum, protein

ABSTRACT

Spirulina platensis was cultured outdoors in ponds and its growth charts, product productivity and protein values were determined in the project study planned and proposed to increase the nutritional value by enriching it with Zinc, Magnesium, Potassium elements at different rates in the use of *Spirulina* as a biofertilizer in human health, supplementary food and agriculture. In the study, the best growth was determined in the group with a mixture of different elements, but the highest protein content was determined in the group containing 5 mg Zn with 63.80%. While the protein content was 63.04% in the control group, the lowest protein amount was determined as 45.23% in the pool, which is a mixture of different element groups where growth is the best.

Key Words: *Spirulina platensis*, zinc, potassium, magnesium, protein

GİRİŞ

Bugün pek çok ülkede yaygın olarak kültüre alınan en önemli alg türlerinden biri *Spirulina platensis*'dir. *Spirulina platensis* %60-70 protein, %15-25 karbonhidrat, %6-8 yağ içeren, B12 vitamini ve gammalinolenik asitçe zengin, kalsiyum ve demir kaynağı, E ve C vitaminlerini bulunduran, klorofil a ve fikosiyanın pigmentlerince zengin, başlıca gıda desteği olarak kullanılan, ipliksi yapıda mikroskobik bir mavi-yeşil alg türüdür. Üretimindeki genel amaç, protein kaynağı sağlamak ve bunun yanında, biyokimyasal yapısındaki zenginliklerden yararlanmak olan *Spirulina* diğer alg türleri arasında özel bir değere sahiptir. *Spirulina platensis*, dünyada en fazla kültürü yapılan, insan ve hayvan gıdası, biyogübre olarak çeşitli sanayi alanlarında, nutrasötik ve farmasötik ürünler olarak eczacılık alanında yaygın olarak kullanılan mavi-yeşil algler sınıfından bir siyanobakteridir. % 60-70 protein içeriği ile pek çok gıdadan daha yüksek miktarda sindirilebilir proteine sahiptir. Yapılan araştırmalarda *Spirulina*'nın antiviral, antikanser, antidiyabetik, antibiyotik, antioksidan, prebiyotik, probiyotik, bağışıklık sistemi güçlendirici, kardiyovasküler sistem koruyucu, hipokolesterolemik ve antialerjik etkileri bulunmuş ve bu pozitif etkilerin nedeni olarak da içerdikleri biyoaktif maddelerin yüksekliği gösterilmiştir. *Spirulina*'nın fonksiyonelliği, gelişimi sırasında besiyerine güçlü antioksidan minerallerin eklenmesi ile artırılabilir. Son yıllarda doğal kaynaklardan elde edilen biyoaktif bileşiklerle ilgili araştırmalar artmıştır. Mikroalgler besin değeri yüksek gıda bileşenlerinin kaynağı olmakla birlikte değerli bir biyoaktif peptit ve aminoasit rezervidir.

Mikroalglerin büyük ölçekli yığın kültürlerinden üretilen biyokütle ile bundan elde edilen protein, lipit, nişasta, gliserol, doğal pigmentler ve biyopolimerler gibi metabolitlere olan ticari ilgi giderek artarak biyokimyasal içeriklerinden yararlanma amacıyla son 20-25 yıldır büyük miktarlarda alg kültürü yapılmaya başlanmıştır. Mikroalgler, zengin bir PUFA (uzun zincirli doymamış yağ asitleri) kaynağı, protein, E vitamini, pigment ve sterollerin kaynağı olarak kabul edilmektedir (Bandarra ve ark., 2003). Mikroalgler hücre içinde biriktirdikleri değerli metabolitleri nedeniyle insanlar tarafından başlıca besin desteği olmak üzere, su ürünleri yetiştiriciliğinde ve kabukluların üretiminde, larva beslemede canlı yem kaynağı, sağlık, kozmetik, nutrasötik ve farmasötik kullanımı alanları yanında, biyoyakıt üretimi, organik gıda boyası, organik gübre, bitki hastalıklarıyla biyolojik mücadele, atık su arıtımı, ağır metal giderimi, biyometaryal elde etme gibi değişik amaçlarla çok geniş uygulama

alanlarında kullanılmaktadırlar. Bu nedenlerle başta Amerika, Japonya, İngiltere, Almanya, İtalya ve Norveç gibi gelişmiş ülkelerde ekonomik değeri olan mikroalgler kültüre alınmakta ve besinsel zenginliklerinden yararlanılmaktadır. Mikroalgal biyoteknoloji, deniz ve göllerde ilk organik maddeyi üreten fotosentetik hücrelerin kütle üretimini gerçekleştirir ve hasat aşamasında canlı kütleye değer kazandıracak ürünler ekleyerek bu türlere ticari değer kazandırır. Kısmen basit yapıları nedeniyle, yüksek büyüme hızına sahip mikroalglerin fotosentetik etkinliğinin kara bitkilerine oranla %10-20 oranında daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bunun sonucu olarak daha hızlı büyürler, çoğunlukla kütlelerini birkaç saat gibi kısa sürelerde üç veya dört kat artırabilirler. Mikroalglerin bu konuda tercih edilmesi nedenleri arasında, biyoteknolojik işlemlerde uygulama kolaylıkları, maliyetlerinin düşük olması, çok sayıda biyoaktif bileşik içermesi ve çevresel faktörlere direnç göstermeleri de eklenebilir. Pek çok ülkede yaygın olarak kültüre alınan mikroalg türlerinin başında mavi-yeşil alg *Spirulina platensis* gelmektedir. İlk kez 1927 yılında Turpin tarafından izole edilen *Spirulina* (Cifferi, 1983) doğal olarak alkali sularda Afrika'da Chad gölü, Meksika'da Texcoco gölü, Kenya'da Rudolf ve Nakura göllerinde bulunmaktadır (Henrikson, 1989). *Spirulina* proteince oldukça zengindir ve kuru ağırlığının %64-74'ünü protein oluşturur. Ayrıca %15-25 karbonhidrat, %6-8 yağ içermekte ve mavi pigment fikosiyenin (%14), yeşil pigment klorofil a (%1) ve turuncu pigment karotenoid (%0.47) içermektedir (Richmond, 1992). *Spirulina*'daki yüksek protein miktarı diğer mikroalglerde ve bilinen tüm besinler arasında nadir rastlanan bir durumdur. *Spirulina* önemli miktarda B12 vitamini Demir, E vitamini ve önemli bir doymamış yağ asidi olan gamalinolenikasit (GLA) içermektedir (Fox, 1996). *Spirulina* diğer alg türleri arasında özel bir değere sahiptir. Bu özel durum, hücre duvarında selülozun olmayışına bağlıdır. Bundan ötürü hücre proteini insan vücudu tarafından hemen sindirilir ve asimile edilir. Hücre duvarı %86'sı sindirilebilir polisakkaritten oluşan *Spirulina*'nın bu nedenle insanlar tarafından sindirimi kolaydır. *Spirulina platensis*, dünyada en fazla kültürü yapılan, insan ve hayvan gıdası olarak çeşitli sanayi alanlarında yaygın olarak kullanılan mavi-yeşil algler sınıfından ipliksi, spiral şekilli bir prokaryotik organizmadır. *Spirulina* ilk olarak 16. yüzyılda İspanyol işgalcilerin Meksika Vadisi'ni fethinden sonra buradaki yerli Aztek halkının civardaki gölden mavi renkli yeni bir gıda topladıklarını farketmeleriyle keşfedilmiştir. *Spirulina* aynı zamanda Çad Gölü kıyılarında yaşayan Kanembu topluluğu tarafından da toplanıp işlenmektedir. *Spirulina*, % 60-70 protein içeriği ile balık eti (% 15-20), soya fasülyesi (% 36,7), inek sütü (% 3,2), yumurta (% 12), sığır eti (% 17,4) veya tavuk eti (% 19) gibi doğal besinlerin çok daha üzerinde sindirilebilir protein

içeriğine sahiptir. Bu bağlamda *Spirulina* biyoaktif madde üretimi için oldukça elverişli bir kaynaktır. Yapılan araştırmalarda *Spirulina*'nın antiviral, antikanser, antidiyabetik, antibiyotik, antioksidan, prebiyotik, probiyotik, bağışıklık sistemi güçlendirici, kardiyovasküler sistem koruyucu, hipokolesterolomik ve antialerjik etkileri bulunmuş ve bu pozitif etkinin nedeni olarak da içerdikleri biyoaktif maddelerin yüksekliği gösterilmiştir. *Spirulina*'nın bağırsak florasındaki laktobasillerin sayılarını arttırarak sindirim sistemi fonksiyonlarını düzenlediği de bildirilmiştir (Bermejo ve ark., 2008). Ayrıca, *Spirulina*'nın fonksiyonelliğinin, büyüme sırasında ortama güçlü antioksidan mineraller eklenerek artırıldığı, büyüme ve biyokimyasal içeriğine olumlu katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Yaygın olarak *Spirulina* olarak bilinen *Spirulina platensis*, Çad'da Kanembou ve Meksika'nın Azthèque halkı tarafından eski zamanlardan beri tüketilen, spiral şekilli, fototosentetik ve toksik olmayan bir siyanobakteridir. Özellikle Asya, Güney Amerika ve Afrika kıtalarında beslenme amacıyla ve besin destek maddesi olarak kullanılan *Spirulina*, modern biyoteknolojik yöntemler kullanılarak dünyada ticari anlamda en fazla üretimi yapılan bir siyanobakteridir. *Spirulina platensis* %55-70 protein oranında içeren, esansiyel aminoasit ve yağ asitleri, Fe ve Ca minerallerince ve vitamince zengin, biyoaktif özellikteki klorofil, karoten ve mavi renkli fikosiyanın pigmentlerini yüksek miktarlarda yapılarında bulundurmaktadır. Hem doğal göllerde hem de endüstriyel havzalarda, dünyanın çeşitli bölgelerinde kültüre alınmaktadır. 2002 yılında Dünya Gıda ve İlaç İdaresi tarafından güvenli gıda olarak kabul edilmiştir. *Spirulina* insan bağışıklık sistemi ve ayrıca antihipertansif, antikanser, antioksidan ve antibakteriyel özellikleri belirlenmiştir (Sun ve ark, 2019). *Spirulina*, biyoaktif bileşikler, esansiyel amino asitlere hidrolize edebilen yüksek kaliteli protein (% 50-70), vitaminler, esansiyel yağ asitleri ve pigmentler içerir (Morsy ve ark., 2019). Mükemmel bir biyoaktif madde ve özellikle de biyo-kütlesinde biriken biyoaktif peptitlere sahiptir. Bununla birlikte, *Spirulina*'nın besin içeriği ve fitokimyasalları yetiştirme koşullarına ve işleme yöntemlerine bağlıdır. Selenyum, magnezyum ve çinko gibi temel iz mineraller insan sağlığı için önemlidir. Bu mineraller *Spirulina* büyümesini uyarabilir ve protein sentezi, lipid ve karbonhidrat metabolizmasında rol oynayabilir (Zhou ve ark, 2018). Planlanan bu proje çalışmasında, laboratuvar ortamında, farklı oranlarda Potasyum, Çinko ve Magnezyum ile zenginleştirilen besi ortamlarında *Spirulina platensis* kültüre alınarak, büyüme eğrisi ve biyokimyasal içerikleri belirlenecektir. Besi ortamlarına farklı oranlarda uygulanacak Potasyum, Çinko ve Magnezyum ile *Spirulina platensis*'in toleransı ve büyüme

için en uygun uygulama dozu belirlenmiş ve muamele gruplarında *Spirulina platensis* biyomasında protein (Potasyum, inko ve Magnezyum) miktarları saptanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada; mavi-yeşil bir alg (siyanobakteri) olan *Spirulina platensis*'in M2 suşu kullanılmıştır. *Spirulina platensis*, çok hücreli, ipliksi, prokaryotik bir mikroalgdır. Mavi-yeşil alger olarak tanınan Cyanophyta filumuna ait *Spirulina platensis*, mitokondri, çekirdek, golgi cisimciği, endoplazmik retikulum ve kofullarının olmaması nedeniyle prokoryatik olarak tanımlanmakta ve benzer hücre çeperine sahip olmaları nedeniyle bakterilere benzetilmektedir. *Spirulina*' da granüler bir sitoplazma vardır ve gaz vakuolleri bulunmaktadır. Düz ve spiral haldeki iplikçikler dallanmamış, silindirik hücrelerden oluşmuştur. Hücre çapları türlere göre değişmektedir. Küçük boyutlu türlerde 1-3 μm arasında, daha büyük türlerde hücre çapı 3-12 μm arasında değişmektedir. *Spirulina* diğer alg türleri arasında özel bir değere sahiptir. Bu zel durum, hücre duvarında selülozun olmayışına bağlıdır. Bundan ötürü hücre proteini insan vücudu tarafından hemen sindirilir ve asimile edilir. Hücre duvarı %86'sı sindirilebilir polisakkaritten oluşan *Spirulina*'nın bu nedenle insanlar tarafından sindirimi kolaydır.

Denemede aşı olarak kullanılmak üzere üretilen *Spirulina platensis* oda sıcaklığında ve 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde sürekli aydınlanmanın sağlandığı ve fotoperiyot (16:8) uygulaması ile laboratuvar koşullarında tutulmuştur. Uygulanan ışık şiddeti ışık metre (Licor, LI-250) ile belirlenmiştir. ışık kaynağı olarak floresan lambalar kullanılmıştır. Raflara yerleştirilen kültürlere bir kompresör aracılığı ile sürekli havalandırma sağlanmıştır. Deneme Fakülte çatısında yer alan 1'er tonluk havuzlarda yürütülmüştür. *Spirulina* besi ortamına kültürü zenginleştirmek amacıyla Mg, Zn ve K eklemesi yapılmıştır. Deneme grupları olarak kontrol, K, Mg ve Zn elementleri ve bu üç elementin karışımından oluşan gruplar oluşturulmuştur. Aşı olarak kullanılacak olan ve laboratuvarda tutulan 10 L hacmindeki stok kültürler aşılama işleminden önce, dışarı ortam koşullarına uyum sağlaması için denemenin yürütüleceği sera ortamına taşınmıştır. Havuz kültürünü hazırlarken ilk aşama olarak izelge1'de gösterilen *Spirulina* besi ortamını oluşturan besleyici elementler distile su ile eritilerek havuza ilave edilmiş, %20 oranında *S. platensis* kültür aşılaması yapılmıştır. Zenginleştirme yapılacak havuzlar için izelge 1'de gösterilen *Spirulina* besi ortamına **2. Havuz (S2)** için; 200 mg $\text{Mg} \cdot \text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, **3. Havuz (S3)** için; 5 mg $\text{Zn} \cdot \text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve **4. Havuz**

(S4) için; 250 gr K_2HPO_4 eklemesi yapılmıştır. 5. **Havuz (S5)** için ise; 200 mg $Mg.SO_4.7H_2O$, 5 mg $Zn.SO_4.7H_2O$ ve 250 gr K_2HPO_4 eklenerek zenginleştirme yapılmıştır. 1. **Havuz (S1)** kontrol grubudur. Havuzlardaki kültür 25 cm yüksekliğe ayarlanarak, kültür hacminin 1000 L besin, 250 L aşı olmak üzere 1250 L olması sağlanmıştır. Denemenin başladığı günden itibaren günlük olarak aydınlık şiddeti, pH, sıcaklık, optik yoğunluk ölçümleri yapılmış, kuru madde ve klorofil *a* miktarları belirlenmiştir. Deneme, 21 gün sürmüştür ve kültürün duraklama fazına girmesiyle sonlandırılmıştır. *S. platensis* kültürlerinin hasatı, dalgıç pompa kullanılarak filtrasyon yoluyla 200 µm, 100 µm ve 45 µm göz açıklığına sahip plankton bezlerinden süzülerek yapılmıştır. Hasat edilen *S.platensis* 'in protein içeriğinin belirlenmesi için örnek alınıp -20 °C 'de saklanmıştır.

Denemede *Spirulina platensis*'in üretiminde *Spirulina* besi ortamı kullanılmıştır. Kültür ortamı Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. *Spirulina* besi ortamı

Besi Ortamı	Besin Maddesi	Miktar
	$NaHCO_3$	18,6 gr
1.Kısım	Na_2CO_3	8,06 gr
	K_2HPO_4	1,00 gr
	Distile su	500.0 ml

Besi Ortamı	Besin Maddesi	Miktar
	$NaNO_3$	5,00 gr
2.Kısım	K_2SO_4	2,00 gr
	$NaCl$	2,00 gr
	$Mg.SO_4.7H_2O$	0,40 gr
	$CaCl_2.2H_2O$	0,02 gr
	$FeSO_4.7H_2O$	0,02 gr
	$EDTANa_2$	0,16 gr
	Mikroelement solüsyonu	10,0 ml
	Vitamin solüsyonu	5,00 ml
	Distile su	500.0 ml

Besi Ortamı	Besin Maddesi	Miktar
	Zn.SO ₄ .7H ₂ O	0,001 gr
Mikroelement solüsyonu	Mn.SO ₄ .7H ₂ O	0,002 gr
	H ₃ BO ₃	0,01 gr
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,001 gr
	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,001 gr
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,00005 gr
	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,7 gr
	EDTANa ₂	0,8 ml
	Distile su	500.0 ml

Denemenin başladığı günden itibaren günlük olarak aydınlık şiddeti, pH, sıcaklık, optik yoğunluk ölçümleri belirlenmiştir. Kültür duraklama fazına girince hasat edilmiştir.

Deneme Süresince Yapılan Analizler

Optik Yoğunluk

S. platensis'in yetiştirildiği havuzların optik yoğunluğu günlük olarak belirlenmiştir. Havuzlardan her bir tekerrür için 3 mL örnek alınmıştır. Alınan örnekler kuartz tüplere konularak görünür spektrofotometrede 680 nm dalga boyunda okunmuştur (Costa ve ark., 2003) (Şekil 3.8). Her bir havuz için ölçüm 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Kuru Madde Analizi

Kuru madde miktarının belirlenmesi analizi için, havuzlardan her bir tekerrür için 10 mL örnek alınmıştır. Örnekler, 0.45 µ'lık filtre kağıtları (GFC), vakumlardan süzölmüştür. Besi ortamından ayrılan hücreler filtre kağıdında kalmıştır. Süzme işlemi için kullanılan filtre kağıtlarının ağırlığı, 105 °C sıcaklıkta 1 saat tutulduktan sonra, hassas terazide tartılarak belirlenmiştir. Hücrelerin toplandığı filtre kağıtları da etüvde 105 °C'de bekletilmiştir. Fakat bu süre 2 saate çıkarılmıştır. Bu süre sonunda örnek hücrelerin bulunduğu filtre kağıtları desikatöre alınmıştır ve soğuyana kadar bekletilmiştir. Oda sıcaklığına kadar soğuyan örnekler hassas terazide tartımları yapılmıştır. Örneklerden tara ağırlığı çıkarıldıktan sonra kuru madde miktarı hesaplanmıştır (Boussiba ve ark., 1992).

Deneme sonunda yapılan analizler

Kültürler duraklama fazına ulaştığında deneme sonlandırılmıştır. Denemenin sona ermesi sırasında optik yoğunluk, klorofil a için örnekler alınmıştır. Deneme sonunda geriye kalan kültürlerin tamamı hücrelerin parçalanmasına izin vermeden 7500rpm dönme hızındaki soğutmalı santrifüj (Heraeus, Suprafuge 22) yardımıyla 10 dakika boyunca çöktürülmüştür. Elde edilen çöktürülmüş hücreler ön işlem uygulanmamış örnekler -20 °C’de dondurucuda 2 saat bekletildikten sonra, laboratuvar ölçekli liyofilizatörde (FreeZone 2.5L 7670530, Labconco) 0,2 mBar vakum altında, -50°C yoğunlaştırıcı sıcaklığında kurutulmuş ve protein analizleri için -21°C’de muhafaza edilmiştir. Protein Analizi Toplam ham protein Kjeldahl metoduna (AOAC 981.10, 1998) göre Kjeldahl cihazında yapılmıştır. Protein analizine başlamadan önce analiz için gerekli olan solüsyonlar hazırlanmıştır.

Örnekler aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır.

$$\%N = 14.01 \times (A-B) \times M \times 100 \text{ g} \times 10 \text{ \%Protein} = \%N \times 6.25$$

A: Örnek için sarf edilen HCl miktarı B: Kör için sarf edilen HCl miktarı M: Asit molaritesi
g: Örnek miktarı

İstatistik Analiz

Denemelerden üç tekrarlı temin edilen numunelerden elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde rapor edilmiştir. İstatistiksel analizlerde önem düzeyi 0.05 olarak alınmış ve SPSS (sürüm 20.0) yazılımı ile analizler gerçekleştirilmiştir ($p < 0.05$).

BULGULAR

S. platensis’in farklı uygulamalar yapılmış kültürlerine ait havuzlarda günlük olarak sıcaklık, aydınlık, pH ve seki diski boyu ölçümleri yapılmıştır ve elde edilen ölçümler kaydedilmiştir.

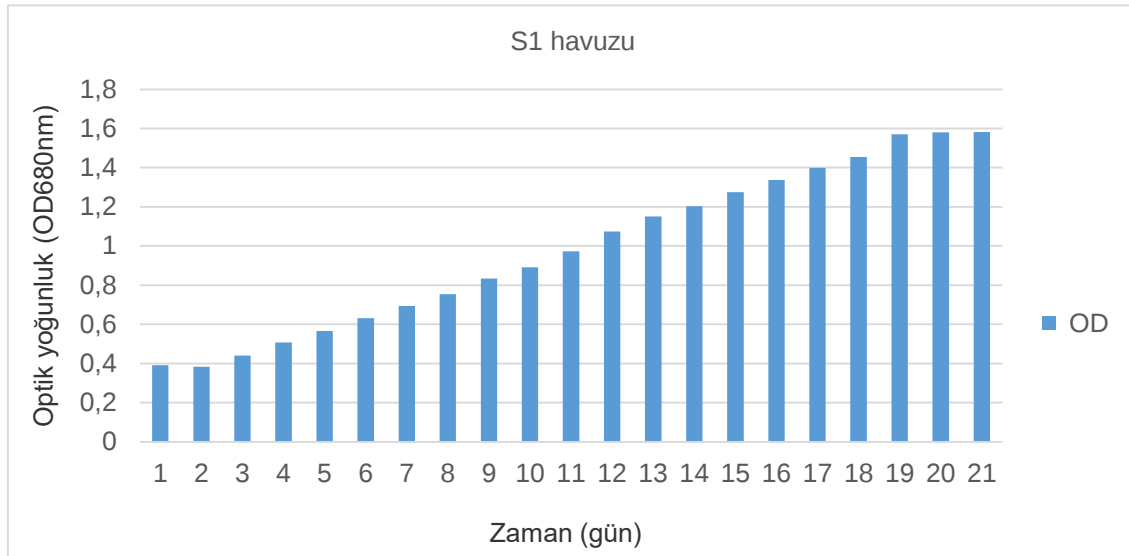
S. platensis’in kültürlerine ait havuzların 21 gün boyunca günlük olarak ölçülmüş ve 5 havuzun sıcaklıklarının ortalamaları $25.4 \pm 0.2^\circ\text{C}$ olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde günlük olarak aydınlanma şiddetleri de ölçülmüş olup ortalama 5 havuza ait değer $755.8 \pm 8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. *S. platensis*’in kültüre alındığı günden itibaren her gün düzenli olarak havuzların pH’ı pH metre ile ölçülüp ortalaması alınmıştır. Tüm havuzlar için deneme

boyunca ortalama pH değeri 10 olmuştur. *S. platensis*'in kültüre alındığı günden itibaren her gün düzenli olarak havuzların seki diski derinliği ölçülmüştür. Seki diski derinliğinin 6 cm'den 2 cm'ye kadar düştüğü gözlenmiştir.

Optik Yoğunluk Miktarları

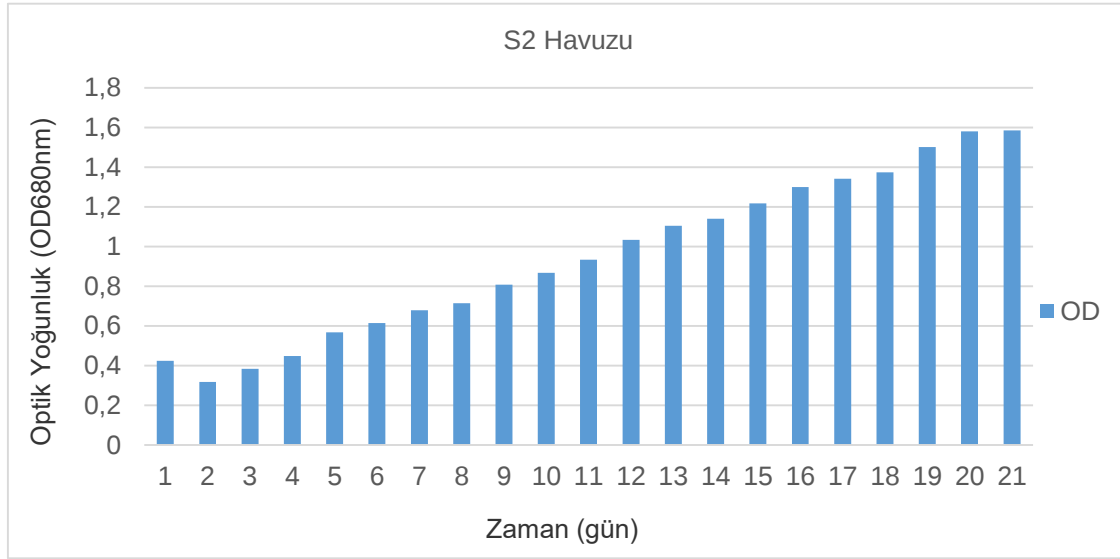
Farklı elementlerce zenginleştirilmiş besi ortamında yetiştirilen *S. platensis* kültürlerinin 21 günlük süre sonunda hasatı yapılmıştır ve 21. güne kadar optik yoğunlukları kaydedilmiştir. Uygulamalara ait en yüksek optik yoğunluk verileri 20 ve 21. günlerde elde edilmiştir. Uygulamalar arasında S5'in optik yoğunluk bakımından diğer uygulamalara kıyasla daha iyi olduğu tespit edilmiştir. S5 havuzun içeriği, S1 havuzundan farklı olarak Mg, Zn ve K elementi ile birlikte zenginleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar bu elementlerin birlikte kullanılarak yapılacak zenginleştirmede kültürün optik yoğunluğunu olumlu yönde etkilediğini göstermiştir. En düşük verilerin elde edildiği S3 havuzu ise, S1 havuzundan farklı olarak Zn elementi ile zenginleştirilmiştir. Elde edilen verilerle Zn elementi ile zenginleştirmenin optik yoğunluk değerlerini azaltıcı etkisi olduğu söylenebilir. Gruplara ait optik yoğunluk verileri tablolarda gösterilmiştir.

Kontrol grubuna ait S1 havuzuna ait en yüksek optik yoğunluk değerleri, denemenin son günü 1.582 ± 0.01 olarak elde edilmiştir.



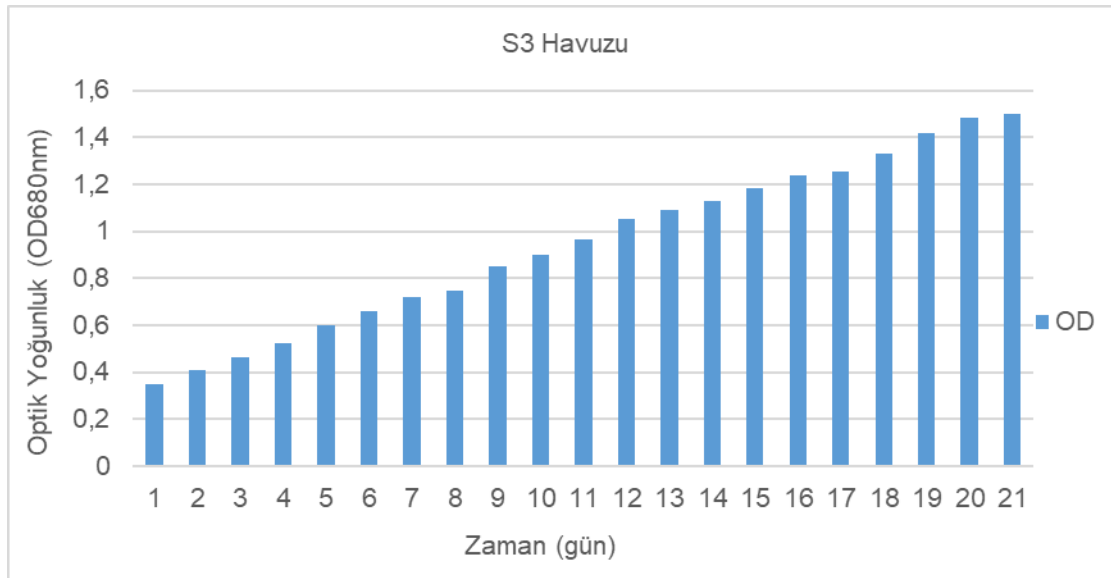
Grafik 1. S1 havuzuna ait optik yoğunluk değerleri

S2 havuzunda (200 mg $Mg.SO_4.7H_2O$) ise durum kontrol havuzuna benzemektedir. Son gün OD değeri 1.584 ± 0.007 olarak belirlenmiştir.



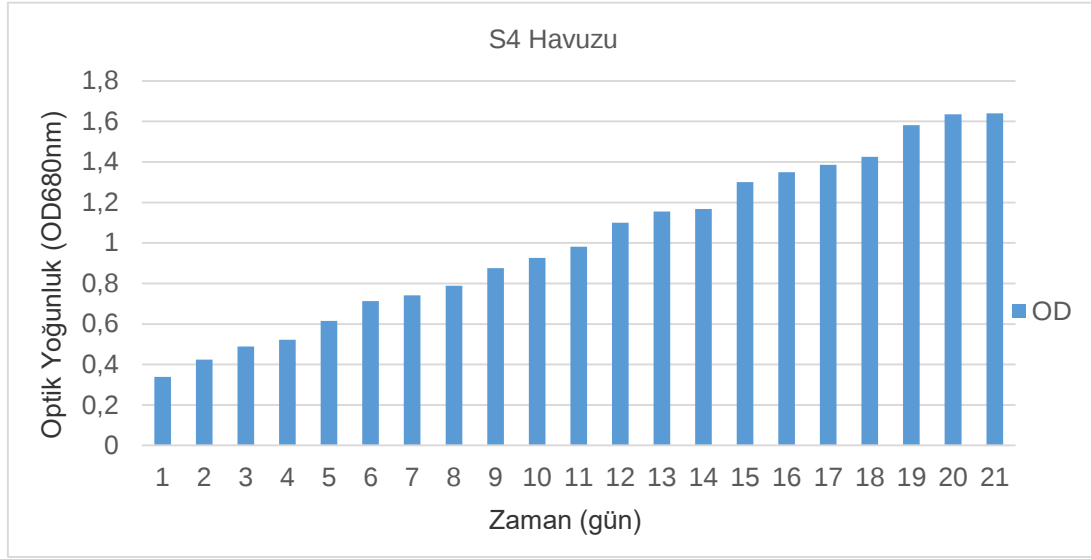
Grafik 2. S2 havuzuna ait optik yoğunluk değerleri

S3 havuzundan (5 mg $Zn.SO_4.7H_2O$) elde edilen OD değerlerine baktığımızda, en düşük verilerin bu gruptan elde edildiği ve son gün OD değerinin 1.499 ± 0.012 olarak belirlenmiştir.



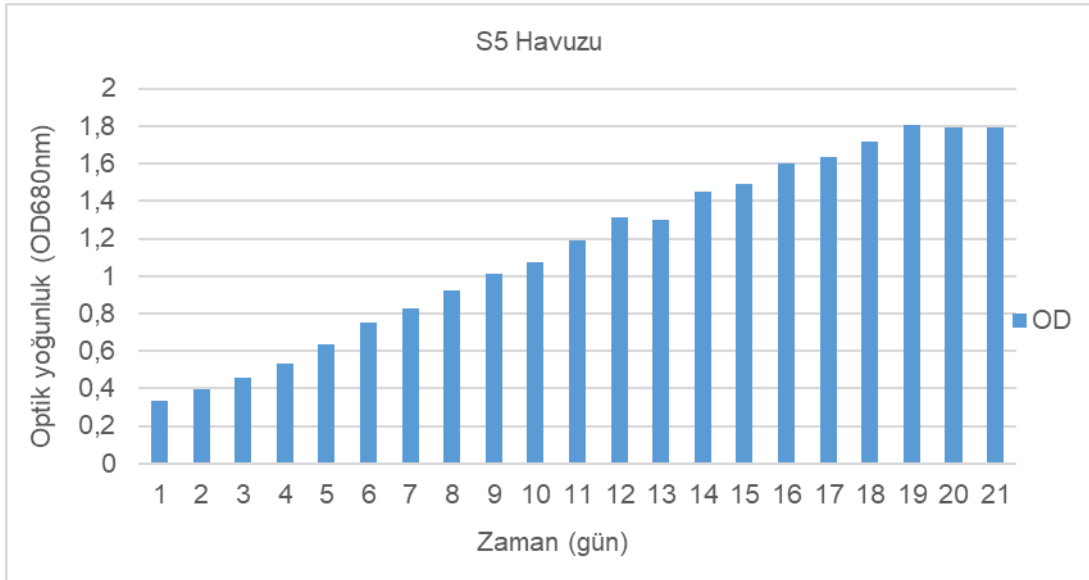
Grafik 3. S3 havuzuna ait optik yoğunluk değerleri

S4 havuzundan (250 gr K_2HPO_4) elde edilen son gün OD değeri 1.639 ± 0.032 olarak belirlenmiştir. S1 ve S2 havuzuna göre daha iyi büyüme gelişimi göstermiştir.



Grafik 4. S4 havuzuna ait optik yoğunluk değerleri

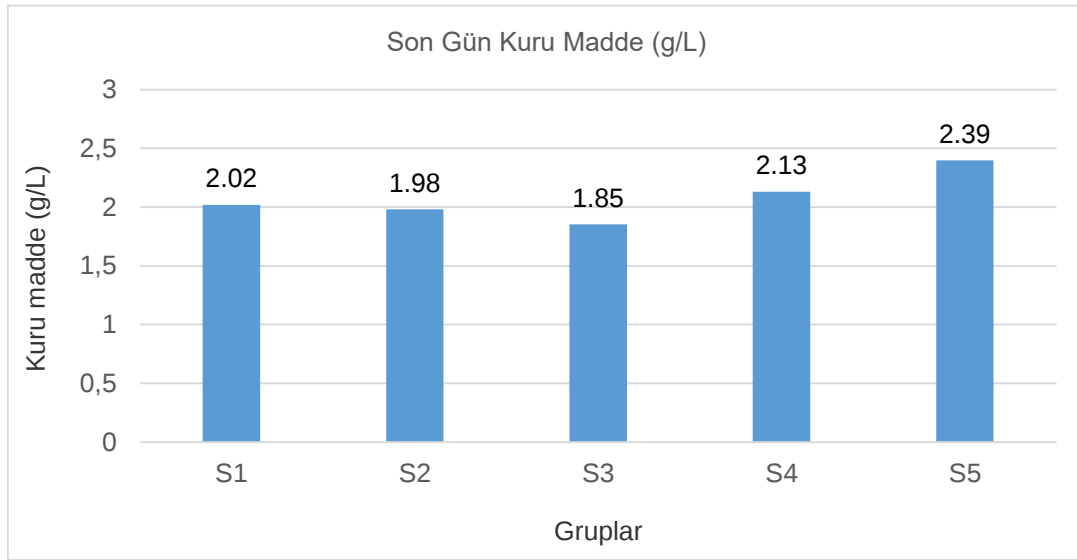
S5 havuzunda (200 mg $Mg.SO_4.7H_2O$, 5 mg $Zn.SO_4.7H_2O$ ve 250 gr K_2HPO_4) elde edilen OD değeri ise diğer havuzlardan elde edilen Od değerlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Son gün elde edilen OD değeri 1.795 ± 0.01 olarak belirlenmiştir.



Grafik 5. S5 havuzuna ait optik yoğunluk değerleri

Kuru Madde Miktarları

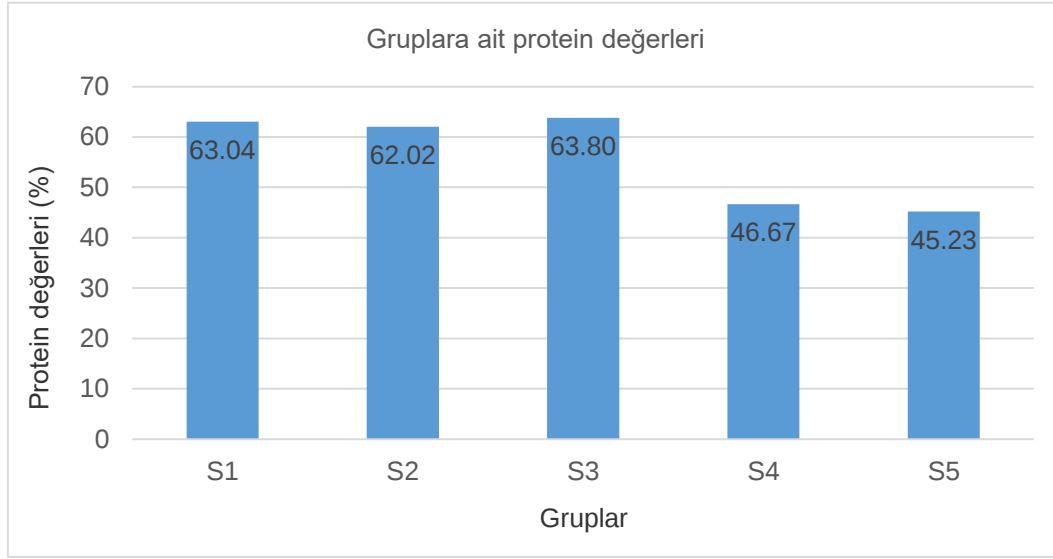
Gruplara ait son gün kuru madde miktarları aşağıdaki grafikte gösterilmiştir. En düşük kuru madde miktarı, optik yoğunluk grafiklerinde de olduğu gibi S3 havuzundan (5 mg Zn.SO₄.7H₂O) 1.85 g/L olarak elde edilmiştir. En yüksek S5 havuzundan 2.39 g/L olarak elde edilmiştir. S1 ve S2 havuzu ise birbirine benzer sonuçlar vermiştir.



Grafik 6. Gruplara ait son gün kuru madde miktarları

Protein Miktarları

Gruplara ait son gün protein miktarları aşağıdaki grafikte gösterilmiştir. En düşük protein miktarı, kuru madde ve optik yoğunluk grafiklerinin aksine S5 havuzundan %45.23 olarak belirlenmiştir. En yüksek protein değerleri ise S1 ve S3 havuzlarından elde edilmiştir. Sırasıyla S1 havuzunda %63.04 ve S2 havuzunda %62.02 olarak belirlenmiştir.



Grafik7. Gruplara ait protein değerleri

Yapılan çalışma sonucunda farklı elementler ile besi ortamının zenginleştirilmesi hedeflenmiştir. S1 kontrol havuzu, S2 Havuzu için; 200 mg $Mg.SO_4.7H_2O$, S3 Havuzu için; 5 mg $Zn.SO_4.7H_2O$, S4 Havuzu için; 250 gr K_2HPO_4 eklemesi yapılmıştır. S5 Havuzu için ise; 200 mg $Mg.SO_4.7H_2O$, 5 mg $Zn.SO_4.7H_2O$ ve 250 gr K_2HPO_4 eklemesi yapılmıştır. Büyüme grafiklerine bakıldığında en iyi büyümenin farklı kimyasalların karışımı olan S5 havuzundan elde edildiği görülmektedir. En düşük büyüme ise S3 havuzu yani 5 mg $Zn.SO_4.7H_2O$ içeren havuz olmuştur. Ancak protein değerlerine baktığımızda ise en iyi protein değeri %63.80 ile 5 mg Zn içeren S3 havuzundan elde edilmiştir. Eklenen kimyasallar büyümeyi etkilemiş ancak biyokimyasal yapıda farklı sonuçların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Eklenen kimyasallardan özellikle 5 mg Zn büyümede fazla bir artışa neden olmazken, protein değerinin en yüksek çıkmasına neden olmuştur.

KAYNAKLAR

- AOAC. 1998. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- BANDARRA, N.M., PEREIRA, P.A., BATISTA, I. and VILELA, H., 2003. Fatty acids, sterols and α -tocopherol in *Isochrysis galbana*. Journal of Food Lipids, 10:25-34.
- BERMEJO-BESCÓS, P., PIÑERO-ESTRADA, E., & DEL FRESNO, Á. M. V. 2008. Neuroprotection by *Spirulina platensis* protean extract and phycocyanin against iron-induced toxicity in SH-SY5Y neuroblastoma cells. Toxicology in vitro, 22(6), 1496-1502.

- BOUSSIBA, S., FAN, L. and VONSHAK, A., 1992. Enhancement and determination of astaxanthin accumulation in green alga *H. pluvialis*. *Methods in Enzymology*, 213:386-391.
- CIFERRI, O. (1983). *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiological reviews*, 47(4), 551-578.
- COSTA, J.A.V., COLLA, L.M., DUARTE FILHO, P. 2003. *Spirulina platensis* growth in open raceway ponds using fresh water supplemented with carbon, nitrogen and metal ions, *Zeitschrift für Naturforsch.* 58c: 76-80.
- FOX, R.D. 1996. *Spirulina*, production and potential. Aix-en-Provence, Edisud, pp 9–232.
- HENRIKSON, R. 1989. Earth food *Spirulina*. Laguna Beach, CA: Ronore Enterprises, Inc, 187.
- MORSY, M. K., MORSY, O. M., ELBARBARY, H. A., & SAAD, M. A. 2019. Enhancing of oxidative stability and quality attributes of olive oil using *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) nanoparticles. *LWT*, 101, 444-455.
- RICHMOND, A. 1992. Mass culture of cyanobacterium. In: *Photosynthetic Prokaryotes*, Mann NH, Carr NG (Eds.). Plenum Press, New York, pp. 181-209.
- SUN, J. Y., HOU, Y. J., FU, X. Y., FU, X. T., MA, J. K., YANG, M. F., ... & OH, J. 2019. Selenium-containing protein from selenium-enriched *Spirulina platensis* attenuates cisplatin-induced apoptosis in MC3T3-E1 mouse preosteoblast by inhibiting mitochondrial dysfunction and ROS-mediated oxidative damage. *Frontiers in physiology*, 9, 1907.
- ZHOU, T., WANG, J., ZHENG, H., WU, X., WANG, Y., LIU, M., & LIU, Y. 2018. Characterization of additional zinc ions on the growth, biochemical composition and photosynthetic performance from *Spirulina platensis*. *Bioresource technology*, 269, 285-291.