



**T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI**

**GRACİLARİA TÜRÜ KIRMIZI YOSUNLARDAN AGAR-  
AGAR ÜRETİMİNİN OPTİMİZE EDİLMESİ VE SEKTÖREL  
KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

**İrem PAK**

Danışman  
**Doç. Dr. Kubilay YILDIRIM**

SAMSUN  
2022

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI



**GRACİLARİA TÜRÜ KIRMIZI YOSUNLARDAN AGAR-  
AGAR ÜRETİMİNİN OPTİMİZE EDİLMESİ VE SEKTÖREL  
KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

**İrem PAK**

Danışman

**Doç.Dr. Kubilay YILDIRIM**

Bu çalışmanın yürütülmesi için gerekli burs desteği 1649B0022103691 numaralı TÜBİTAK 2210-A, deneysel süreçler 121Z615 numaralı TÜBİTAK 1002 programı tarafından desteklenmiştir.

SAMSUN  
2022

## TEZ KABUL VE ONAYI

İrem PAK tarafından, Doç. Dr. Kubilay YILDIRIM danışmanlığında hazırlanan “GRACİLARIA TÜRÜ KIRMIZI YOSUNLARDAN AGAR-AGAR ÜRETİMİNİN OPTİMİZE EDİLMESİ VE SEKTÖREL KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 10.5.2022 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Dr. Öğretim Üyesi Çiğdem SARAÇ Akdeniz Üniversitesi	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul
	Biyomedikal Mühendisliği Ana Bilim Dalı	<input type="checkbox"/> Ret
Üye	Doç. Dr. Kubilay YILDIRIM Ondokuz Mayıs Üniversitesi	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul
	Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı	<input type="checkbox"/> Ret
Üye	Dr. Öğretim Üyesi Ali Osman ADIGÜZEL Ondokuz Mayıs Üniversitesi	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul
	Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı	<input type="checkbox"/> Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY

... / ... / ...

Prof. Dr. Ali BOLAT  
Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet

Hayır

21 /11 / 2022  
İrem PAK

## TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

**Tez Başlığı :** GRACİLARİA TÜRÜ KIRMIZI YOSUNLARDAN AGAR-AGAR ÜRETİMİNİN OPTİMİZE EDİLMESİ VE SEKTÖREL KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 21/11/2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 16

Tek kaynak oranı : % 1 çıkmıştır.

21 /11 / 2022  
Doç. Dr. Kubilay YILDIRIM

## ÖZET

### GRACILARIA TÜRÜ KIRMIZI YOSUNLARDAN AGAR-AGAR ÜRETİMİNİN OPTİMİZE EDİLMESİ VE SEKTÖREL KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

İrem PAK

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans, Aralık/2022

Danışman: Doç. Dr. Kubilay YILDIRIM

Fikokolloid olarak tanımlanan agar, ısıtıldığında eriyen ve soğutulduğunda önemli derecede histerezis gösteren termo-tersinir jeller oluşturur. Düşük jel mukavemetinden dolayı gıda sınıfı agar yapmak için *Gracilaria* tercih edilirken, jel gücü yüksek olan *Gelidium* ise bakteriyolojik ve farmasötik sınıf agarlar ve agaroz yapmak için kullanılmaktadır. *Gelidium* küçük ve yavaş büyüyen bir cins olması nedeniyle ekimi zor ve oldukça maliyetlidir. Ayrıca ülkemizdeki *Gelidium* yayılımı agar üretimini karşılayacak miktarda değildir. *Gracilaria* cinsleri ise özellikle Marmara Denizi'nde geniş bir yayılıma sahip olup, elde edilmesi kolay bir malzeme haline gelmiştir. Çalışma kapsamında ülkemiz kıyılarından toplanan *Gracilaria* yosunlarından agar üretim süreçlerinin optimize edilmesi amaçlanmıştır. Bu optimizasyon sırasında çeşitli kurutma tekniklerinin (Dondur-çöz, liyofilizatör, spray-dryer) etkinlikleri test edilmiş, bu yöntemler ile elde edilen agarın gıda, mikrobiyolojik ve biyoteknolojik uygulamalarda kullanım potansiyeli belirlenmiştir. Çalışmada toplanan *Gracilaria* örneklerine ön alkali muamelesi (%3NaOH) ve %1 çamaşır suyu uygulaması ile %9,5 verimlilikte, jel gücü yüksek ( $1024 \pm 36 \text{ g/cm}^2$ ) agarın elde edilebileceği görülmüştür. Dondur-çöz yöntemine kıyasla, liyofilizatör yöntemi ile elde edilen agarın veriminin maksimum seviyeye çıktığı ancak spray-dryer yöntemi ile düştüğü tespit edilmiştir. Bu farklı kurutma yöntemleri ile elde edilen agarların jel gücünün de dondur-çöz yöntemi ile elde edilen agara kıyasla düştüğü tespit edilmiştir. Ancak homojen beyaz renkli ve partikül boyutu en küçük agarın spray-dryer yöntemi ile elde edilebileceğini, bu kurutma uygulaması ile agar üretiminde önemli ölçüde enerji verimliliği sağlanabileceği belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen *Gracilaria* agarlarının gıda alanında kullanım potansiyeli araştırılmıştır. Yapılan ağır metal analizleri limitlerin altında bulunmuş, ticari agara kıyasla viskozite, sertlik, elastikiyet gibi parametrelerin de başarılı olduğu bulunmuştur. *Gracilaria* agarlarında bakterilerin ve bitkilerin büyütülmesinde herhangi bir teşvik edici ya da inhibe edici etki görülmemiş, bakteri ve bitkilerin her iki agarın oluşturduğu zemin üzerinde ticari kontrol ile aynı oranda büyüdüğü gösterilmiştir. *Gracilaria* agarlarından elde edilen agaroz kullanılarak DNA moleküllerinin ticari kontrol ile aynı oranda ayrıştırılabileceği gösterilmiştir. Çalışma ile *Gracilaria* türünden jel gücü yüksek agar elde edilip, ilk defa *Gracilaria* agarının biyoteknolojik kullanımı kanıtlanmıştır. Ayrıca farklı kurutma tekniklerinin agar üretiminde ilk defa araştırıldığı çalışmada spray-dryer yönteminin verim ve jel gücündeki kayba rağmen kullanılabilirliği ilk defa gösterilmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Agar agar, *Gracilaria*, Dondur-çöz, Liyofilizatör, Spray-dryer

## ABSTRACT

### OPTIMIZATION OF AGAR-AGAR PRODUCTION FROM GRACILARIA (RED ALGAE) SPECIES COLLECTED FROM TURKISH SHORES AND INVESTIGATION OF ITS UTILIZATION IN DIFFERENT SECTORS

İrem PAK

Ondokuz Mayıs University  
Institute of Graduate Studies

Department of Molecular biology and Genetics Programme  
Master, December/2022

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kubilay YILDIRIM

Agar, defined as phycocolloid, forms thermo-reversible gels that melt when heated and exhibit significant hysteresis when cooled. Gracilaria is preferred to make food-grade agar due to its low gel strength, while Gelidium with high gel strength is used to make bacteriological and pharmaceutical-grade agars and agarose. Gelidium, small, slow-growing plants, is difficult and costly to cultivate. There is no natural spread of Gelidium to meet the agar production in our country. Gracilaria species has gained a wide natural distribution especially in the Sea of Marmara and has become an easy material to obtain. Within the scope of the study, it was aimed to optimize the agar production processes from Gracilaria algae collected from the coasts of our country. During this optimization, the efficiency of various drying techniques (freeze-thaw, lyophilizer, spray-dryer) were tested, and the food, microbiological and biotechnological use potential of the agar obtained by these methods was determined. It has been observed that agar with high gel strength ( $1024 \pm 36 \text{ g/cm}^2$ ) can be obtained with 9.5% efficiency with pre-alkali treatment (3 NaOH) and 1% bleach application on Gracilaria samples collected in the study. Compared to the freeze-thaw method, it was determined that the yield of agar obtained by the lyophilizer method increased to the maximum level, but decreased with the spray-dryer method. It was determined that the gel strength of the agars obtained by these different drying methods decreased compared to the agar obtained by the freeze-thaw method. However, it has been determined that homogeneous white colored agar with the smallest particle size can be obtained by the spray-dryer method, and a significant energy efficiency can be achieved in agar production with this drying application. The potential for use in food field of Gracilaria agars obtained in the study was investigated. Heavy metal analyzes were found below the limits, and parameters such as viscosity, hardness, and elasticity were found to be successful compared to commercial agar. No stimulating or inhibitory effect was observed on the growth of bacteria and plants on Gracilaria agars, and it was shown that bacteria and plants grew on the ground formed by both agars at the same rate as commercial control. It has been shown that DNA molecules can be separated at the same rate as commercial control using agarose obtained from Gracilaria agars. With this study, agar with high gel strength was obtained from Gracilaria species and biotechnological use of Gracilaria agar was proven for the first time. In addition, in the study where different drying techniques were investigated for the first time in agar production, the usability of the spray-dryer method was shown for the first time despite the loss in yield and gel strength.

**Keywords:** Agar-agar, Gracilaria, Freeze-Thaw, Freeze-dryer, Spray-dryer

## ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezim süresince emeğini esirgemeyip, bilgi birikimi ve bilimsel düşünceleriyle bana destek olup yol gösteren öncelikle danışman hocam Sayın Doç. Dr. Kubilay YILDIRIM, analizler sırasında cihaz kullanımı ve yorumlanması konusunda yardımcı olan gıda mühendisi Ayşegül BEŞİR'e ve ardından emeği geçen bütün hocalarıma

Bu zorlu süreçte hiçbir yardımı esirgemeyip, sabırla bilgi ve tecrübelerini paylaşan Cansu CAN, İlkey SEVGEN KÜÇÜK ve sevgili bölüm arkadaşlarıma

Aldığım her kararda yanımda olup beni yalnız bırakmayan, büyük sabırla ve sevgiyle her konuda destek olup bugünlere gelmemi sağlayan annem Ayten ORTATAŞ ve babam Süreyya ORTATAŞ'a ve her zaman yanımda olup moralimi yüksek tutan güzel kardeşlerim Elif ORTATAŞ ve Berra ORTATAŞ'a

Tanıdığım ilk günden beri ufkumu, beynimi, kalbimi açan, her konuda beni cesaretlendirip maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen, hayatımda olmasından büyük mutluluk duyduğum sevgili eşim Alperen PAK'a ve dünyaya getirmeyi sabırsızlıkla beklediğim, tezimi yazdığım süre boyunca küçük ayaklarıyla beni destekleyen canım kızım İlay Aden PAK'a

Çalışmanın yürütülmesi için gerekli burs desteğini 1649B0022103691 numaralı 2210-A, deneysel süreçleri 121Z615 numaralı TÜBİTAK 1002 programları ile destekleyen TÜBİTAK'a

Teşekkürlerimi sunarım.

İrem PAK

# İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI .....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI .....	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI .....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
TABLolar DİZİNİ .....	xi
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1. Makroalgler.....	3
1.2. Makroalglerin Yetiştirilmesi ve Hasadı .....	4
1.3. Makroalglerin Kullanım Alanları: .....	5
1.4. Kırmızı Algler.....	6
1.5. Gracilaria.....	8
1.6. Ülkemizde Gracilaria Varlığı ve Kullanımı.....	11
1.7. Agar Agar.....	13
1.7.1. Agarın Kullanım Alanları .....	14
1.7.2. Agarın Moleküler Yapısı .....	17
1.7.3. Agar Üretim Yöntemleri .....	18
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>22</b>
2.1. Agar Ekstraksiyonunun Optimizasyonu .....	22
2.1.1. Dondur-Çöz (freze-thaw) Yöntemi ile Kurutma:.....	23
2.1.2. Agarın Toz Hale Getirilmesinde Alternatif Teknolojilerin Kullanılması .....	24
2.2. Agar Veriminin Hesaplanması.....	25
2.3. Agar Jel Gücünün Hesaplanması .....	25
2.4. Agarda Jelleşme-Erime Sıcaklığının Tayini .....	26
2.5. Agarda pH Tayini .....	26
2.6. Agarda Ham Kül Tayini.....	26
2.7. Renk Ölçümü .....	27
2.8. Partikül Boyutu Ölçümü .....	27
2.9. Kırmızı Yosunlarından Elde Edilen Agarın Gıda ve Biyoteknolojik Kullanımının Test Edilmesi .....	28
2.9.1. Gıda Alanında Kullanımının Test Edilmesi .....	28
2.9.2. Biyoteknolojik Alanda Kullanımının Test Edilmesi.....	29
<b>3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>31</b>
3.1. Agar Ekstraksiyonunun Optimizasyonu ve Kurutma Yöntemlerinin Test Edilmesi .. 31	
3.1.1. Ülkemiz Kıyılarından Toplanan Kırmızı Yosunlardan Dondur-Çöz Yöntemiyle Agar Üretiminin Optimize Edilmesi .....	31
3.1.2. Agarın Toz Haline Getirilmesinde Alternatif Teknolojilerin Kullanılması .....	37
3.1.3. Kırmızı Yosunlardan Elde Edilen Agarın Gıda ve Biyoteknolojik Kullanımının Test Edilmesi .....	44
<b>4. SONUÇ .....</b>	<b>57</b>
<b>KAYNAKÇA.....</b>	<b>66</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>72</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µm	: Mikrometre
3,6 AHG	: 3,6 Anhidrogalaktoz
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BAP	: Kanlı Agar Plakası
cm	: Santimetre
cP	: Centipoise
Ç.s.	: Çamaşır Suyu
D.ç.	: Dondur-Çöz
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
ECC	: Avrupa Ekonomik Topluluğu
FAO	: Gıda ve tarım organizasyonu
FCC	: Gıda Kimyasal Kodeksi
FT-IR	: Fourier Transform Infrared Spektrofotometre
Gr	: Gram
GRAS	: Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan
JECFA	: Gıda katkıları FAO/WHO ortak uzmanlar komitesi
JSPA	: Japon İşlenmiş Agar Spesifikasyonları
Kb	: Kilobaz
KBr	: Potasyum Bromür
Kg	: Kilogram
L	: Litre
LB	: Luria Bertani
M	: Metre
Mm	: Milimetre
Mmhg	: Milimetre civa
MS	: Murashige and Skoog
Pa	: Pascal
PDA	: Patates Deskstroz Agar
PEG	: Polietilen Glikol
Ppt	: Binde Bir
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

TAE	: Tris Asetik Asit
USP	: Amerikan Farmakolojisi
w/v	: Birim Hacimdeki Kütle
WHO	: Dünya Saęlık rgt
$\alpha$	: Alfa
$\beta$	: Beta



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Gracilaria yosununun tipik hayat döngüsü .....	10
Şekil 1.2 Gracilaria cinsi kırmızı yosunun görüntüsü.....	11
Şekil 1.3 Kadıköy Caddebostan sahilinin kırmızı yosunlarla kaplanması .....	12
Şekil 1.4 Agarın mikrobiyolojide ve bitki doku kültüründe kullanımı .....	16
Şekil 1.5 Agarın agarobiyoz yapısı.....	18
Şekil 2.1 Gracilaria yosunlarından agar eldesi aşamaları .....	22
Şekil 2.2 Spray dryera verilmiş agar ekstraktı ve sıcaklık-pompa değerleri.....	25
Şekil 2.3 Reoloji cihazına konulan agar örnekleri .....	26
Şekil 2.4 Renk ölçüm cihazına konulan agar örnekleri.....	27
Şekil 2.5 Tekstür cihazına konulan agar örnekleri.....	28
Şekil 3.1 Farklı konsantrasyonlarda sadece çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunlarından elde edilen agarlar .....	32
Şekil 3.2 %5 çamaşır suyu uygulanmış farklı NaOH konsantrasyonlarından elde edilen Gracilaria agarları.....	32
Şekil 3.3 Sırasıyla Gracilaria %3 NaOH+ %1 çamaşır suyu, Gracilaria %3 NaOH+ %2 çamaşır suyu, Gracilaria %6 NaOH+ %1 çamaşır suyu ve Gracilaria %6 NaOH+ %2 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunlarından elde edilen agarlar .....	32
Şekil 3.4 -20°C'de 1 gece dondurulup liyofilizatöre konulan agar örnekleri .....	38
Şekil 3.5 Liyofilizatörde kurutulmuş agar örnekleri .....	38
Şekil 3.6 %3Naoh+%5 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunun liyofilizasyon ile kurutulan agarların toz hali.....	39
Şekil 3.7 %3Naoh+%1 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunun liyofilizasyon ile kurutulan agarların toz hali.....	39
Şekil 3.8 %3 Naoh+%5 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunun spray dryer ile kurutulan agarların toz hali.....	39
Şekil 3.9 %3Naoh+%1 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunun spray dryer ile kurutulan agarların toz hali.....	40
Şekil 3.10 %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunundan farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen agarların partikül boyutu ölçümü ve ticari agar ile karşılaştırılması.....	43
Şekil 3.11 Ticari agar ve Gracilaria agarlarının önemli dalga boylarında gösterdiği sülfat titreşimleri.....	48
Şekil 3.12 Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen Gracilaria agarlarının sülfat içeriklerinin FT-IR ile belirlenip ticari agar ile karşılaştırılması.....	50
Şekil 3.13 %3NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından farklı kurutulma yöntemlerin elde edilen agarların mikrobiyolojik olarak karşılaştırılması.....	53
Şekil 3.14 Ticari agarda büyütülmüş mikroorganizmaların görüntüsü.....	53
Şekil 3.15 Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen Gracilaria agarlarının bitki doku kültürü uygulaması .....	54
Şekil 3.16 Ticari agarın bitki doku kültürü uygulaması.....	54

Şekil 3.17 Agaroz üretim aşamaları .....	55
Şekil 3.18 Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen Gracilaria agarlarından elde edilen agarozun jel elektroforezi uygulaması.....	55
Şekil 3.19 Ticari agarozun jel elektroforezi görüntüsü.....	56



## TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.1 Dünya genelinde Gelidium ve Gracilaria cinsi yosunların yıllara göre dağılımı ....	8
Tablo 3.1 Gracilaria'dan elde edilen agarların kalite parametrelerinin ticari agar ile karşılaştırılması: .....	32
Tablo 3.2 Bazı Gracilaria türlerinin verimi, jel kuvveti ve sülfat içeriği .....	34
Tablo 3.3 Gracilaria'dan elde edilen agarların renk ölçüm değerleri .....	37
Tablo 3.4 %3 NaOH+ %1 çamaşır suyu konsantrasyonunda uygulanan Gracilaria yosunlarından farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen agarların bazı kalite parametrelerinin ticari agar ile karşılaştırılması .....	40
Tablo 3.5 %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunundan farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen agarların renk ölçüm değerlerinin ticari agar ile karşılaştırılması.....	42
Tablo 3.6 %3 NaOH+ %5 çamaşır suyu konsantrasyonunda uygulanan Gracilaria yosunlarından farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen agarların bazı kalite parametrelerinin ticari agar ile karşılaştırılması .....	46
Tablo 3.7 Farklı konsantrasyon ve kurutma yöntemleriyle elde edilen Gracilaria agarlarının sertlik, yapışma, yaylanma ve bağlanma değerlerinin ticari agar ile karşılaştırılması.....	46
Tablo 3.8 Farklı konsantrasyon ve kurutma yöntemleriyle elde edilen Gracilaria agarlarının sakızlık, çiğneme ve dayanma değerlerinin ticari agar ile karşılaştırılması .....	47
Tablo 3.9 Farklı konsantrasyon ve kurutma yöntemleriyle elde edilen Gracilaria agarlarının viskozitelerinin ticari agar ile karşılaştırılması.....	47
Tablo 3.10 Farklı konsantrasyonlarla elde edilen Gracilaria agarlarının ağır metal analizleri ve ticari agar ile karşılaştırılması.....	52
Tablo 3.11 %3NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından farklı kurutulma yöntemlerin elde edilen agarların koloni çap büyüklüklerinin karşılaştırılması.....	53
Tablo 3.12 Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen Gracilaria agarlarından yapılan bitki doku kültüründe büyütülen tütün tohumlarının 60. gündeki ağırlık ve yaprak sayısı karşılaştırılması .....	54
Tablo 3.13 Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen Gracilaria agarlarından agaroz eldesi verimi.....	55

# 1. GİRİŞ

Güçlü jelleşen bir fikokolloid olarak tanımlanan agar, çok sayıda kırmızı deniz yosunu türünde (Rhodophyta sınıfı) hücreler arası matris malzemesi olarak ortaya çıkan bir galaktan polisakkarit sınıfının üyelerini ifade eder (Armisen and Galatas, 2009; Usov, 2011). Doğal olarak agaroz ve agaropektinden oluşan agarın ana yapısı düşük ester sülfat içeriğinin yanı sıra birkaç varyasyonla tekrar eden D-galaktoz ve 3,6-anhidro-L-galaktoz birimleri ile kimyasal olarak karakterize edilir (Matsubishi, 1990; Vuai and Mpatani, 2019). Agar, ısıtıldığında eriyen ve soğutulduktan termotersinir jeller oluşturur (erime 85–95 °C ve jelleşme 33–45 °C) (Alba and Kontogiorgos, 2019). Agarın bu özellikleri göz önüne alındığında gıda endüstrisinde şekerleme, kaplama, jöle, meyve suyu ve dondurulmuş gıdaların üretiminde; aynı zamanda reçellerde, marmelatlarda ve süt ürünlerinin yapım aşamasında stabilizatör ve emülgatör olarak kullanılır (Naidu, 2000; Pal et al., 2014) Mikrobiyal bozulmaya karşı gösterdiği direnç, iyi jel sertliği, elastikiyet, berraklık ve stabilite gibi özellikler, agarı mikrobiyolojik uygulamalar ve doku kültürü çalışmaları için ideal bir ortam bileşeni yapar. Bunun yanı sıra agar kabızlık tedavisinde, protez diş hekimliğinde ve çeşitli kozmetik ürünlerde jelleştirici ajan olarak kullanılmaktadır (Naidu, 2000.)

Rhodophyta sınıfının agar veren türleri (agarofitler) Gracilariaceae, Gelidiaceae, Phylloporaceae ve Ceramiaceae familyalarında bulunurken Gracilaria ve Gelidium agar üretiminde kullanılan başlıca iki cinsi oluşturmaktadır (Alba and Kontogiorgos, 2019). Gracilaria, gıda sınıfı agar yapmak için kullanılırken, Gelidium bakteriyolojik ve farmasötik sınıf agarlar ve agaroz yapmak için tercih edilmektedir (Bixler and Porse, 2011; Freile-Pelegrín and Robledo, 1997). Gelidium, en iyi kalitede agar verirken; küçük, yavaş büyüyen bitkiler oldukları için havuzlarda ve tanklarda yetiştirmek mümkün olsa da ekimi zor ve oldukça maliyetlidir. Doğal kaynağı, ticari ölçekte birçok ülke ve bölgede yetiştirilen Gracilaria'dan daha azdır (McHugh, 2003). Kültürü yapılamayıp, doğal stoklara bağımlı olan Gelidium'un dünya çapında endişe verici oranda azalmaya devam ettiğini özetlemektedir (Bixler & Porse, 2011; Porse & Rudolph, 2017). Bu yüzden gracilaria türleri dünya çapında ana agar kaynağı olarak tercih edilmeye başlanmıştır (McHugh, 2003).

Agar ekstraksiyonu için olan genel metodoloji, kurutulmuş yosunların suda kaynatılarak özütlenmesini, çıkan ekstraktın süzülmesini ve agarın açığa çıkarılması için suyun dondurulup çözülerek ayrılmasından oluşur (Armisen and Galatas, 1987).

Gracilaria türlerinin doğal agarları, yüksek sülfat içeriğinden dolayı düşük jel mukavemetine sahiptir ve kalite bakımından düşüktür. Bu yüzden sülfat gruplarını ortadan kaldırmak ve jel gücünü arttırmak için agar ekstraksiyon adımından önce alkali ön işlemleri kullanılır (Freile-Pelegriñ and Robledo, 1997; Pereira-Pacheco et al., 2007). Bu alkali ön işlemin NaOH ile yapılması agarın yapısındaki L galaktoz-6-sülfatı; 3,6-anhidro-L galaktoz formuna dönüştürerek jel kuvvetini artırır (Duckworth and Yaphe, 1971; Orduña-Rojas et al., 2008) Böylece Gelidium'un agar endüstrisindeki azalan miktarının telafisi Gracilaria ile sağlanabilir (Yousefi et al., 2013). Gracilaria'nın agar ekstraksiyonu sürecindeki genel adımlar bilinmesine rağmen agar verimini ve kalitesini optimize etmek için ekstraksiyon değişkenlerini standartize etmek gereklidir (Kumar and Fotedar, 2009).

Klasik dondurma çözme yöntemi, nispeten kolay bir üretim süreci sunmasına karşın, enerji açısından verimsizdir. Ayrıca elde edilen son ürün jelimsi bir madde olduğundan, öğütülerek homojen bir madde haline getirilmesi oldukça zordur. Bu nedenle agarın alternatif üretim yöntemlerinin araştırılması ve sanayi boyutunda üretim için optimize edilmesi gerekmektedir. Liyofilizasyon; materyalden suyun buz kristallerinin süblimasyonu yoluyla uzaklaştırılması için kullanılan bir yöntemdir. Malzemedeki donmuş su (yani buz kristalleri), çevresel atmosferik basıncın azaltılmasıyla katı fazdan doğrudan gaz fazına geçer. Spray-dryer işlemi ise sıvı örneklerin sıcak hava ortamına püskürtülmesi ve örneğin içerdiği suyun evaporasyonu sonucu ürünün toz halinde elde edilmesine dayanmaktadır. Püskürtülen örnek süspansiyon, emülsiyon veya solüsyon halinde olabilirken, elde edilen ürün partikül veya granül halindedir. Agarın dondurulmadan doğrudan toz haline getirilmesini sağlayan, bu yöntem zaman-ve enerji açısından önemli bir potansiyeline sahip olup, agar kalitesinin en üst düzeye çıkarma kapasitesi bulunmaktadır.

Bu çalışmada ülkemiz Karadeniz ve Marmara kıyılarından elde edilen Gracilaria cinsi kırmızı deniz yosunları agar üretim süreçlerinin optimize edilmesi ve ticari agarla kıyaslanması amaçlanmıştır. Ayrıca Gracilaria yosunlarından elde edilen agarların gıda, bakteriyolojik, bitki doku kültürü, agaroz jel elektroforezi gibi biyoteknolojik alanlarda kullanım potansiyelleri araştırılmıştır. Böylece ülkemizde doğal yayılımı bulunan Gracilaria yosun türünün agar üretim potansiyeli ortaya konulacaktır. Bu çalışmada ayrıca agarın liyofilizatör ve spray-dryer yöntemleri ile toz haline getirilmeleri ve klasik dondur- çöz yöntemi ile verim, jel kuvveti, erime ve donma

noktası, ham kül oranları, pH gibi kalite parametreleri ve enerji giderleri karşılaştırılmaları yapılmıştır. Ayrıca bu yöntemlerden elde edilen agarlarında biyoteknolojik ve gıda sektörleri için kullanım uygunluğu test edilmiştir.

### **1.1. Makroalgler**

Denizdeki bitki yaşamı son derece zengindir ve bu kaynakların bir kısmı yüzlerce yıldır kullanılmaktadır. İnsanın dikkatini giderek artan bir şekilde gıda ve endüstriyel kimyasalların ana kaynağı olarak sucul yaşama çevirdiği günümüzde hem dibe bağlı hem de suda yüzen bitki yaşamı büyük önem kazanmaktadır. Sucul yaşamın yüzen bitkileri; balıklar ve küçük hayvanlar için temel gıda maddelerini oluşturan fitoplanktonlardan oluşurken, dibe bağlı olanlar ise yosunlardan oluşmaktadır (Chapman and Chapman, 1980). Aynı zamanda alg olarak adlandırılan bu canlılar klorofil içeren organizmalardır. Algler, uzun bir fosil geçmişine sahip heterojen bitki grubudur. Makroalgler ve mikroalgler olmak üzere iki ana alg türü tanımlanabilir. Makroalgler (deniz yosunları) yeşil algleri, kahverengi algleri ve kırmızı algleri içerip kıyı bölgelerinde bulunurlarken mikroalgler hem bentik hem de kıyı habitatlarında ve ayrıca okyanus sularında fitoplanktonlar şeklinde bulunurlar (Garson, 1989). Mikroalgler 3-10 µm, makroalgler ise 70 m uzunluğa kadar olan ve günde 50 cm'ye kadar büyüyen türleri ile büyük ölçüde değişebilen boyutlara sahiptirler (el Gamal, 2010).

Halk tarafından deniz yosunları olarak bilinen makroalgler; deniz ekosistemlerinde, okyanusta birincil üreticiler olarak diğer canlı organizmalar için ekolojik ve biyolojik olarak önemlidir. Ayrıca fizyolojik ve morfolojik özelliklerinin yanı sıra kimyasal bileşimleri bakımından da karasal bitkilerden önemli ölçüde farklıdır (Setthamongkol et al., 2015) Makroalgler, insan beslenmesi için önemli miktarda protein, lipit, mineral, vitamin, çoklu doymamış yağ asitleri, makro ve eser elementlerin yanı sıra önemli biyoaktif bileşikler içerirler (Ortiz et al., 2006; Setthamongkol et al., 2015) Deniz makroalglerinin büyümesi ve besin içerikleri türe, coğrafi dağılıma, mevsime ve su sıcaklığı, tuzluluk, ışık ve besin maddeleri ve mineral mevcudiyeti gibi temel çevresel faktörlere göre de değişir ve özellikle taksonomik sınıflara ve türlere bağlıdır (Jung et al., 2013; Peña-Rodríguez et al., 2011). Çoğu deniz makroalgleri, ABD Tarım Bakanlığı'na (2001) göre, çiğ brokoli (%4,4), taze tam yağlı süt (%3,3) ve çiğ havuç (%0,7) gibi kara bitkilerinden ve hayvansal ürünlerden daha fazla protein içeriğine sahiptir (Setthamongkol et al., 2015). Ayrıca makroalgler

karasal biyokütle ile karşılaştırıldığında, daha yüksek metal ve halojen içeriğine sahiptirler. Deniz yosunları ve makroalgler genellikle brom ve iyot içerirken, kara kökenli biyokütle genellikle önemli miktarda klor içerir (Ross et al., 2008).

Lipitler oksidasyon süreçlerinde diğer biyolojik bileşiklerden çok daha fazla etkinlik ve enerji sağlarlar, canlı organizmalar için uygun bir depolama materyali oluştururlar (Setthamongkol et al., 2015). Makro alglerin yapısında lipidler, özellikle birkaç direnç katmanında geniş ölçüde dağılmış halde bulunurlar (Rameshkumar et al., 2012). Çoğu makroalgler düşük lipid içeriğine sahiptirler ve çok düşük miktarlarda enerji sağladıklarından dolayı kalorileri düşüktür. Aynı zamanda makroalglerin polisakkaritleri de insanlar tarafından sindirilemedikleri için yeni bir diyet lifi ve gıda bileşeni kaynağı olarak kabul edilirler (Ratana-Arporn and Chirapart, 2006). Bunların yanı sıra deniz yosunlarında bulunan bazı eser elementler karasal bitkilerde nadir bulunur veya hiç bulunmazlar (Rameshkumar et al., 2012).

## **1.2. Makroalglerin Yetiştirilmesi ve Hasadı**

İnsanlar tarafından kullanılan deniz yosunlarının yaklaşık %95'i yetiştirme faaliyetleri sonucunda oluşmuştur ve bu kültüre edilmiş deniz yosunlarının yaklaşık %93'ü şu dört cinsten oluşmaktadır: Porphyra, Undaria, Laminaria ve Gracilaria. Küresel deniz yosununun sadece %6'sı doğal stoklardan gelirken geri kalan kısmı yetiştirilmektedir. Deniz yosunu üretimi, aşağıdaki gibi 9 adımdan oluşur:

- Verimli deniz yosunun toplanması.
- Verimli malzemedен sporların salınması.
- Kontrollü laboratuvar koşullarında kültürün geliştirilmesi.
- Laboratuvar koşulları altında üremenin başlatılması.
- Uygun substrat üzerine verimli kültürlerin püskürtülmesi.
- Laboratuvar koşulları altında kültürün geliştirilmesi.
- Denizde uzun hat (veya diğer) sistemlerde kültürün yerleştirilmesi.
- Yaklaşık 6-7 ayda yosun gelişimi.
- Deniz yosunu hasadı.

Yosunlar hem manuel hem de mekanik olarak hasat edilebilirler. Elle hasat dünya çapında kullanılan en yaygın yöntemdir ve hem doğal hem de kültüre edilmiş makroalgler için kullanılabilir. Elle hasatta, algleri sökmek için orak, çatal ve ağ gibi aletler kullanılırken biçmek için döner bıçaklar, vakum veya tırmıklı kesiciler gibi

mekanize hasat yöntemleri geliştirilmiştir. Fakat bu mekanize hasat makineleri teknelerin veya gemilerin çalışmasını da gerektirirler. (Ghadiryantar et al., 2016)

### **1.3. Makroalglerin Kullanım Alanları:**

Deniz algleri, doğrudan insan tüketiminde gıda için yaygın olarak kullanılan çok yönlü bir ürün olduğu gibi küresel gıda, eczacılık ve kozmetik endüstrileri için önemli bir bileşendir ve gübre ve hayvan yemlerinde katkı maddesi olarak da kullanılırlar (McHugh, 2003). Etnik insanlar binlerce yıldır deniz yosunlarını veya özlerini kullanmaktadırlar (Abbott, 1996). Tarihe bakıldığında M.Ö 2700 yıllarında algleri ilk kullanan kişi Kral Shen Nung olmuş, daha sonralarda Roma İmparatorluğu döneminde kozmetikte renk maddesi olarak yararlanılmıştır. Deniz alglerinin en eski kullanım alanının ise gübre yapımı olduğu bilinmektedir (Kaba ve Çağlak, 2006). Çinliler, MÖ 2000'den beri deniz yosunlarını hem ilaç hem de gıda için kullanmışlardır (Abbott, 1996). Özellikle Çin ve Japonya'da iyot eksikliğinin neden olduğu guatr gibi birçok hastalığın ve çeşitli bağırsak bozukluklarının tedavisinde ek vitamin kaynağı olarak, pansumanda, merhemde ve jinekolojide kullanılmıştır (el Gamal, 2010). Deniz yosunlarından elde edilen biyoaktif maddeler şu anda da gıda, hayvan yemi, endüstri ve farmakolojide hammadde olarak kullanılmaktadır ve tedavi edici uygulamalara sahiptirler (Popescu, 2013). Makroalglerde bulunan bazı metabolitlerin, anti-inflamatuar (sülfolipidler ve fukoidanlar), anti-mikrobiyal (yağ asitleri ve fenolik bileşikler), anti-mutajenik (sülfatlı polisakaritler, sülfolipidler ve polifenoller), antidiyabetik (polifenoller) ve anti-kanser özellikleri (suda çözünür polisakaritler ve sülfolipidler) bulunmakta ve sağlığı geliştirici etkileri olduğu bilinmektedir (Belghit et al., 2017).

Deniz yosunu gıda olarak özellikle Çin, Japonya ve Kore Cumhuriyeti gibi Asya ülkelerinde kullanılmaktadır. Ancak bu ülkelerden diğer ülkelere göç oldukça gıda olarak deniz yosununa olan talep artık Kuzey Amerika, Güney Amerika ve Avrupa'ya da yayılmıştır (McHugh, 2003). Batılılar, Doğuluların yaptığı gibi genellikle deniz yosununu bütün parçalar halinde kullanmayıp, yemek hazırlıklarında agar, aljinat ve karagenan gibi deniz yosununun özlerini kullanmaktadırlar. Bu nedenle, diğer gıda bileşenleriyle birleştirilen bu maddeler, ürünlerin etiketleri dikkatlice okunmadıkça varlıkları bilinmemektedir. Uzun 'raf ömrü' (bozulmadan veya soğutmadan depolama) ve hızlı gıda hazırlama ihtiyacıyla birlikte deniz yosunu ürünleri içeren hazır gıdaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır (Abbott, 1996).

Deniz yosunları tüm dünyada doğal olarak bulunabildiği gibi dünya üzerindeki artan deniz yosunu talebi doğrultusunda kültüre alınarak üretimi de yapılmaktadır (Kaba ve Çağlak, 2006; McHugh, 2003). Çin, yaklaşık 5 milyon ıslak ton hasat ile en büyük yenilebilir deniz yosunu üreticisi olmakla birlikte onu 800.000 ton ile Kore Cumhuriyeti, 600.000 ton üretimle Japonya izlemektedir. Öte yandan deniz yosunlarının bugün tüm kıtalarda üretimi görülmektedir (McHugh, 2003).

Ekonomik öneme sahip deniz algleri pigmentasyonlarına göre üç gruba ayrılabilirler: Yeşil algler, kahverengi algler ve kırmızı algler (Kaba ve Çağlak, 2006, McHugh, 2003). Botanikçiler bu geniş grupları sırasıyla Chlorophyceae, Phaeophyceae ve Rhodophyceae ve olarak adlandırır (McHugh, 2003). Chlorophyceae (yeşil algler)'nin karakteristik yeşil rengi, esas olarak klorofilin mevcudiyetinden kaynaklanır ve diğer bitkilerle aynı oranda klorofil bulundurur (Bold and Wynne, 1985). Phaeophyceae (kahverengi algler)'nin kahverengi rengi, ksantofil pigmentlerinin ve fukoksantin'in baskınlığından kaynaklanır. Bu baskınlık diğer pigmentleri, klorofil ve c, b-karotenleri ve diğer ksantofilleri maskeler (Bold and Wynne, 1985). Kahverengi alglerin besin rezervleri tipik olarak karmaşık polisakkaritler ve daha yüksek alkollerdir. Temel karbonhidrat rezervi laminarindir. Hücre duvarları selüloz ve alginik asitten yapılmıştır. Birçok biyoaktif metabolit, farklı farmakolojik aktivitelere sahip kahverengi alglerden izole edilmiştir (el Gamal, 2010). Rhodophyceae (kırmızı algler)'in kırmızı rengi, fikoeritrin ve fikosiyanın pigmentlerinin baskınlığından kaynaklanır. Bu baskınlık diğer pigmentleri, klorofil a (klorofil b yok), b-karoten ve bir dizi benzersiz ksantofilleri maskeler (Bold and Wynne, 1985). Kırmızı alglerin duvarları selüloz, agar ve karrajenanlardan yapılmıştır. Kırmızı alg Kappaphycus ve Betaphycus, özellikle yoğurt, çikolatalı süt ve hazır pudingler olmak üzere gıdalarda yaygın olarak kullanılan bir bileşen olan karrajenanın en önemli kaynaklarıdır. Gracilaria, Gelidium, Pterocladia ve diğer kırmızı algler, mikroorganizmalar ve biyoteknolojik uygulamalar için bir büyüme ortamı olarak yaygın olarak kullanılan çok önemli agarın üretiminde kullanılır. Kırmızı algler, diğer alg sınıflarına kıyasla biyolojik olarak aktif birçok metabolitin en önemli kaynağı olarak kabul edilir (el Gamal, 2010).

#### **1.4. Kırmızı Algler**

Rhodophyta (kırmızı algler), iyi karakterize edilmiş ve morfolojik olarak çeşitli fotosentetik protistlerin soyundandır. Şu anda 7.100'den fazla türü rapor edilmektedir

(Yoon et al., 2017). Bu algler, kutup sularından tropiklere kadar dünyanın her yerinde bulunurlarken daha çok akıntılı gölcüklerde ve mercan resiflerinde bulunurlar (Kennedy J., 2020). Türlerin %3'ünden daha azı gerçek tatlı su habitatlarında meydana gelirken türlerin sayısı tundradan tropiklere doğru yaklaşık dört kat artar (Sheath and Vis, 2015).

Kırmızı algler, klorofil, kırmızı fikoeritrin, mavi fikosiyenin, karotenler, lutein ve zeaksantin dahil olmak üzere çeşitli pigmentler içerirler. İçerdiği en önemli pigment ise kırmızı ışığı yansıtıp, mavi ışığı emerek bu alglere kırmızı pigmentasyonlarını sağlayan fikoeritrindir. Ayrıca, fikoeritrinin diğer ışık dalgalarından daha derine nüfuz eden mavi ışık dalgalarını emmesi kırmızı alglerin daha derinlerde fotosentez yapmasına izin verir, bunun sonucu olarak kırmızı algler diğer bazı alglerden daha derinlerde okyanusta hayatta kalabilirler (Kennedy J., 2020).

Kırmızı algler filogenetik olarak alt bitkilerin en eski bölümüdür ve hücre duvarlarının polisakkarit bileşimi ve hücreler arası matris malzemesi ile diğer tüm bitkilerden farklıdır. Çoğu kırmızı alg yapısında benzersiz sülfatlanmış galaktanlar içerir. Agarlar ve karrajenanlar olarak bilinen bu polisakkaritlerin iki grubu, endüstriyel ölçekte kırmızı alglerden hazırlanır ve güçlü jelleştirici ve stabilize edici ajanlar olarak geniş pratik bir uygulama alanı bulurlar (Usov, 2011). Karrajenan içeren deniz yosunları (karrajenofitler) esas olarak dünya çapındaki *Kappaphycus* ve *Gigartina* cinslerinin doğal kaynaklarından toplanmaktadır (Alba and Kontogiorgos, 2019)

Rhodophyta sınıfının agar veren türleri (agorofitler) *Gracilariaceae*, *Gelidiaceae*, *Phylloporaceae* ve *Ceramiaceae* familyalarında bulunurken *Gracilaria* ve *Gelidium* agar üretiminde kullanılan başlıca iki cinsi oluşturmaktadır (Standley, 2006; Alba and Kontogiorgos, 2019). *Gracilaria*, gıda sınıfı agar yapmak için kullanılırken, *Gelidium* ise daha yüksek verim ve daha düşük jelleşme sıcaklığı (34–36 °C) ile daha iyi bir kaliteye sahip olduğu için bakteriyolojik ve farmasötik sınıf agarlar ve agaroz yapmak için tercih edilmektedir (Bixler and Porse, 2011; Porse and Rudolph, 2017). *Gelidium*, en iyi kalitede agar verirken; küçük, yavaş büyüyen bitkiler oldukları için havuzlarda ve tanklarda yetiştirmek mümkün olsa da ekimi zor ve oldukça maliyetlidir. Doğal kaynağı, ticari ölçekte birçok ülke ve bölgede yetiştirilen *Gracilaria*'dan daha azdır (McHugh, 2003). *Gracilaria* şu anda ticari olarak yetiştirilen tek türdür ve çoğunlukla Endonezya ve Şili'de yetiştirilir. Malezya, Tayland ve Çin'de yetiştirilmesi de çok daha

az miktarda gerçekleşir. Güney Afrika ve Namibya'da da küçük miktarlarda yetiştirilmektedir. Gelidium hasadı ise esas olarak İspanya, Portekiz ve Fas'ta yapılır ve daha az miktarlarda Güney Kore, Japonya ve Meksika'da yapılmaktadır (Bixler and Porse, 2011). Tablo 1.1'de doğal kaynaklara bağımlı olup kültürü yapılamayan Gelidium'un dünya çapında endişe verici oranda azalmaya devam ettiği; önemi azalan Gelidium'un aksine, Gracilaria'nın yıllar içinde agar ekstraksiyonu için önem kazandığı görülmektedir (Bixler and Porse, 2011; Porse and Rudolph, 2017).

Tablo 1.1 Dünya genelinde Gelidium ve Gracilaria cinsi yosunların yıllara göre dağılımı

TİP/BÖLGE	1999(kuru ton)	2009(kuru ton)	%	2015(kuru ton)	%
<b>Gracilaria</b>					
İspanya-Portekiz	300	200		100	
Namibya	450	300		3000	
Şili-Peru-Arjantin	22,350	30,000		24,000	
Endonezya-Çin-Vietnam	10,900	27,000		87,000	
Toplam	34,000	57,500	80	114,100	91
<b>Gelidium</b>					
Meksika.-Şili	800	800		600	
İspanya-Portekiz-Fransa	7,400	4,000		1000	
Morokko	7,000	6,000		6000	
Japonya-Kore-Endonezya	5,000	4,000		3500	
Toplam	20,200	14,800	20	11,100	9
Genel Toplam	54,200	72,300	100	125,200	100

### 1.5. Gracilaria

Gracilaria, kırmızı bir alg olarak sınıflandırılır, ancak farklı renk belirtilerine sahiptir. Yaklaşık 0.1 ila 5 m uzunluğunda olabilen Gracilaria; çeşitli kırmızı ve kahverengi-sarımsı tonlarında, iplikli yapıya sahip, tallusu gür, biraz sert ve nispeten kısa veya uzun dallı makroskopik algler olarak tanımlanabilir. Esasen tüm ticari formlar, genellikle 2 mm'den küçük çapta ve genellikle 30 cm'den yüksek olmayan, terete eksenli, ince ve söğütlü bir yapıya sahiptir (Oliveira et al., 2000; Santelices' and Doty', 1989).

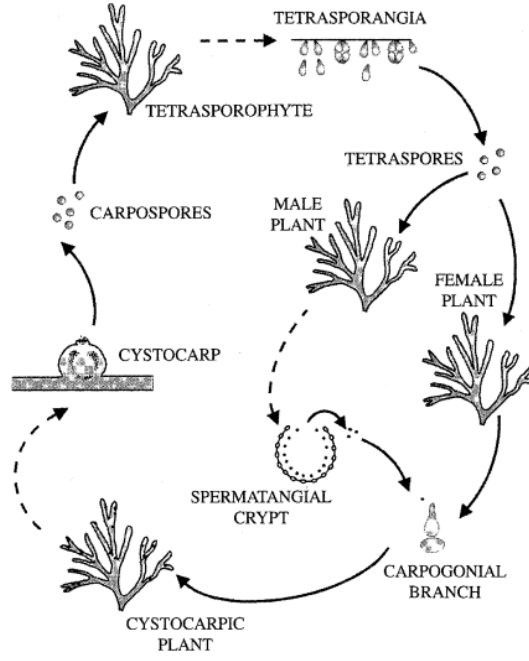
Yaşam öyküsü, "Polysiphonia tipi" olarak bilinen diğer kırmızı alglerin çoğunun temel modelini izler. Bu nedenle diploid karposporların ve haploid tetrasporların üretilmesi beklenir, ancak çiftlik popülasyonları genellikle steril kalır (Santelices' and Doty', 1989). Haploid tetrasporlar yalnızca mikroskop altında görülebilirken

karposporları taşıyan sistokarplar, çıplak gözle kolayca görülebilen yarım küre şeklindeki topaklar olduğundan, dışı thalli mikroskop yardımı olmadan tanınabilir (Oliveira et al., 2000; Santelices' and Doty', 1989). Steril yapraklar sürekli olarak büyür, çoğalır veya sadece parçalanma yoluyla vejetatif olarak çoğaltılabilir (Santelices' and Doty', 1989).

Gracilaria'nın yıllık küresel hasadı 37.000 kuru tonun üzerindedir, bunun yaklaşık olarak üçte biri su ürünleri yetiştiriciliği ile yapılmaktadır. Son on yılda, doğal kaynakların gelişigüzel hasat edilmesinin yanı sıra, artan küresel pazar talebini karşılamak için ticari olarak ekimi yükseliştir. Şimdiye kadar çeşitli yetiştirme yöntemleri denenmiş olsa da yaygın olarak uygulanan yöntemler dipçik, ip, ağ ve yüzer sal veya kafes kültürüdür. Tek halatlı yüzer sal tekniğinin, denenmiş diğer çeşitli yöntemlere göre daha verimli ve avantajlı olduğu bildirilmiştir (Mantri et al., 2009).

Agar kaynağı olarak bilinmesine rağmen, Gracilaria algleri ayrıca çoğunlukla salata ve çorbalarda insan gıdası olarak, deniz hayvanları için yem olarak, su arıtımı için yapı maddelerinin uzaklaştırılmasında ve enerji üretimi için biyokütle olarak kullanılmıştır. Agar üretimi için hammadde olarak kullanımları açık ara en önemlisidir. (Oliveira et al., 2000)

Gracilaria algleri, birkaç türün (örneğin, Gracilaria chilensis ve Gracilaria gracilis) dağılımları ılıman sulara yayılmasına rağmen, türlerin çoğunluğu kuzey yarımkürenin daha sıcak sularında yoğunlaşmış pantropik bir dağılıma sahiptir. Grubun geniş coğrafi dağılımı, çok sayıda türe sahip olmasına ve bazı türlerin tuzluluğa karşı gösterdiği geniş toleransına bağlıdır. 60 ppt'ye kadar olan tuzluluklarda, tatlı sularda, 35°C'den donmaya kadar olan sıcaklıklarda da hayatta kalabilirler ve donmaya birkaç ay dayanabilirler. (Oliveira et al., 2000)



Şekil 1.1 Gracilaria yosununun tipik hayat döngüsü (Oliveira et al., 2000)

Alem	Plantae
Bölüm/şube	Rhodophyta
Sınıf	Florideophyceae
Takım	Gracilariales
Familiya	Gracilariaceae
Cins	Gracilaria
Tür	<i>G. chilense</i> , <i>G. gigas</i> , <i>G. edulis</i> , <i>G. gracilis</i> , <i>G. tenuistipitata</i>
(Armisen and Galatas, 2009; Anonim, 2022d)	



Şekil 1.2 Gracilaria cinsi kırmızı yosunun görüntüsü (Hessami, 2018)

### **1.6. Ülkemizde Gracilaria Varlığı ve Kullanımı**

Dünyada agar, kırmızı yosun grubunda bulunan Gracilaria, Gelidium, Pterocladia, Acanthopeltis ve Ahnfeltia türlerinden üretilmektedir (João et al., 2020). Dünyada kırmızı alg hasadı ile agar üretimi yoğun şekilde Uzak Doğu ülkelerinde görülmektedir (Murano, 1995). Bu ülkelerde agar doğrudan gıda maddesi olarak tüketildiğinden kırmızı yosunların denizlerde üretimine yönelik önemli yatırımlar bulunmaktadır. Bunun dışında üretilen yosunun hayvansal yem olarak kullanıldığı bölgeler de bulunmaktadır (Song et al., 2012). Kırmızı yosunların agar, agaroz ve agaropektin gibi endüstriyel maddeler üretimi yine Japonya başta olmak üzere uzak doğu ülkelerinde gerçekleştirilmektedir. Bunun dışında Avrupa'da son yıllarda Akdeniz'de doğal yetişen kaynaklardan ve çeşitli havuz ya da açık denizlerde yetiştirilen Gelidium ve Gracilaria türlerinden kırmızı yosun üretimi artmıştır (Hernández and ark 2013). Bu ülkelerden özellikle İspanya biyoteknolojik agar ile gıda agar üretimi açısından çok büyük bir üretim kapasitesine ulaşmıştır. Bunun dışında Fas, Tunus gibi Akdeniz ülkeleri ile Ukrayna ve Rusya gibi Karadeniz ülkelerinde kırmızı yosun hasadı ve agar üretimi görülmektedir (Armisen and Galatas, 2009).

Ülkemizde kırmızı yosun varlığına baktığımızda ise Karadeniz şehirlerinden Sinop 142, Zonguldak 100, Samsun 106, Ordu 93 adet Rhodophyta taksonu barındırmaktadır (Aysel vd., 2004). Ayrıca belirli dönemlerde, İstanbul'da İodosun etkisindeki dalgalar nedeni ile Kadıköy Caddebostan sahili kırmızı yosunlarla

kaplanmaktadır. Sahil boyunca kayalıkları kaplayan bu kırmızı deniz yosunları iş makineleri tarafından toplanarak çöp olarak atılıp herhangi bir hammadde malzemesi olarak kullanılmayıp, hiçbir ekonomik getiriye dönüştürülmemektedir (Anonim, 2022a)

*Gracilaria* cinsi kırmızı deniz yosunu ise Türkiye kıyılarında Karadeniz, Marmara, Akdeniz ve Ege’de hemen hemen her ilde doğal olarak bulunmaktadır (Ak vd., 2011; Anonim 2022b). İzmir ve İzmit körfezlerinden toplanan *Gracilaria*, Japonya’ya ihraç edilen başlıca deniz yosunu türüdür (Koru vd., 2008a; Yenigül, 1993). Türkiye’de doğal stokların aşırı kullanımını önlemek için *Gracilaria*’nın kültüre edilmesi ile ilgili birçok çalışma mevcuttur (Ak vd., 2011; Koru vd., 2008; Cirik vd., 2010; Cirik vd., 2006).

Ülkemizde sınırlı sayıda da olsa, bu kırmızı yosunlardan jelleşme gücü yüksek agar üretimini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Ogretmen vd., 2018;2019; Ak ve Cimri 2004; Yenigül 1993; Aysel vd., 2005;2008; Aydın vd., 2006) Ancak yapılan çalışmalar laboratuvar ölçeğinde olup, elde edilen agarların gıda, mikrobiyoloji ve biyoteknolojik alanlarda kullanımları araştırılmamıştır. Ticari üretim için gerekli üretim süreçlerinin araştırılmaması ayrıca elde edilen agarın sektörlerin ihtiyacına uygun kalitede olup olmadığının belirlenmemesi yerli agar üretimi için önemli eksikliklerdir. Tamamen yerli imkanlarla üretilebilecek agar ve agar kökenli bileşiklerin dışarıdan getirilmesi hem ülkemiz kaynaklarının yeterli kullanılmamasına hem de dışa bağımlı ithalatla maddi kayıplar yaşamamıza sebep olmaktadır.



Şekil 1.3 Kadıköy Caddebostan sahilinin kırmızı yosunlarla kaplanması (Anonim, 2022c)

## 1.7. Agar Agar

Hidrokolloid terimi genellikle benzersiz fizikokimyasal ve jelleşme özelliklerinden dolayı endüstriyel sektörlerde yaygın olarak kullanılan bir dizi polisakkarit ve proteini tanımlamak için kullanılır (Öğretmen ve Kaya, 2019). Agar; jelleştirici, koyulaştırıcı, stabilize edici ve kriyoprotektif etkilerinin yanı sıra yüksek biyolojik parçalanabilirliği ve büyük su tutma kapasitesi nedeniyle gıda, ilaç, kozmetik ve biyoteknoloji endüstrilerinde kullanılan ilk hidrokolloiddir ve en önemli ticari hidrokolloidlerden biridir. (Kumar and Fotedar, 2009; Lee et al., 2017; Porse and Rudolph, 2017) Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi (USP) ve Gıda Kimyasal Kodeksi (FCC), agarı kaynar suda çözünen ancak soğuk suda çözünmeyen kırmızı deniz yosunlarından ekstrakte edilen bir hidrokolloid olarak tanımlar.(Lee et al., 2017)

İnsanlar için yararlı bir materyal olarak Uzak Doğu'da 300 yıldan fazla süredir bilinen agar, farklı biyokimyasal, biyomedikal ve endüstriyel uygulamalarda biyopolimerlerin rolünün artması nedeniyle son zamanlarda büyük ilgi görmektedir. (Marinho-Soriano, 2001; Trivedi and Kumar, 2014; Zainab Mohammed Al-Nahdi et al., 2015) Bir Japon efsanesine göre, agarın orijinal üretim yöntemi 17. yüzyılın ortalarında, muhtemelen 1658'de tesadüfen keşfedilmiştir (McHugh, 2003). Minoya Tarazaemon ilk kez 1658'de dondurma-çözme yöntemini kullanarak agar hazırladığında Gelidium'u kullanmıştır (Armisen, 1995). Malayca jel anlamına gelen agar agar tatlandırılmış ve aromalı jel formu, Japonya'da "soğuk hava" anlamına gelen "Kanten" olarak bilinmektedir (McHugh, 2003). Hambei Miyata, Minoya ailesinden öğrendiği yöntemi geliştirerek kanten üretimine başlamış; böylece agarın 'şerit' formu üretilmeye başlanmış ve Japonya'nın her yerinde satışa sunulmuştur (Armisen, 1995). Daha sonra Doğu Hint Adaları'ndaki Çinli göçmenlerden kanteni gören Avrupalılar, bu Japon ürününü meyveli jöle yapmak için kullanmayı öğrenmişler ve ardından Avrupa'ya tanıtmışlardır (McHugh, 2003). Daha sonra agar, 1859'da Paris Bilim Akademisi'nde düzenlenen bir oturumda Payen tarafından Batı'ya tanıtılmış ve 1882 yılında Koch tarafından bakteriler için kültür ortamının hazırlanmasında kullanılmıştır (Armisen, 1995).

Gracillariales takımı, agar ekstraksiyonu için dünya çapındaki en büyük kaynak olarak bilinir (Murano, 1995). Polisakkaritlerin bir karışımı olarak, başta Gelidiaceae ve Gracilariaceae familyaları olmak üzere bazı kırmızı alg türlerinin hücre matrisinden ekstrakte edilen agar, esas olarak agaroz ve agaropektinden oluşmaktadır (Li et al.,

2008; Marinho-Soriano and Bourret, 2005). Agaroz, D galaktoz ve 3,6-L-anhidrogalaktozdan (3,6 AG) oluşan tekrarlanan disakkarit agarobiyoz birimlerinin lineer yapısına sahip nötr bir polisakkarittir. Agaropektin ise agarobiyoz ek olarak sülfat ester, pirüvik asit ve D-glukuronik asit içeren bir asit polisakkarittir (Zainab Mohammed Al-Nahdi et al., 2015). Polisakkarit zincirindeki süstitüent gruplarının tipi, yeri ve miktarı türlere, çevresel koşullara, fizyolojik faktörlere ve ekstraksiyon yöntemlerine bağlıdır ve agarın fiziksel özelliklerini güçlü bir şekilde etkiler (Freile-Pelegrín and Murano, 2005; Marinho-Soriano and Bourret, 2005). Agar 90-95 °C'ye ısıtıldığında erir ve 30-40 °C'ye soğutulduğunda ise jelleşme gerçekleşir (Park et al., 2020). Jel gücü ve jelleşme sıcaklığı gibi agarın verimi ve fiziksel özellikleri ile kimyasal özellikleri, agarın ticari değerini belirler. Jel özelliklerinden dolayı bu kolloid, tıp ve biyoteknoloji uygulamalarının yanı sıra işlenmiş gıdalar, kozmetik ve farmasötik ürünlerde jelleştirici, koyulaştırıcı veya stabilize edici ve emülsifiye edici ajan olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Yaphe, 1984; Li et al., 2008; Marinho-Soriano and Bourret, 2005). Gıda bileşeni olarak kullanımı, tüketiminin %80'ini oluşturur ve geri kalanı biyoteknolojik uygulamalar için kullanılır (Arvizu-Higuera et al., 2008).

### **1.7.1. Agarın Kullanım Alanları**

#### **1.7.1.1. Gıda Alanındaki Kullanımı**

Gıda uygulamalarında Agar agar, FDA (Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından ABD'de GRAS (Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan) olarak kabul edilen evrensel kullanıma sahip bir gıda katkı maddesidir. Avrupa'da E406 katkı maddesi olarak kabul edilir. Kimyasal Abstraktların Kayıt Hizmetinde 9002-18-0 olarak kayıtlıdır (Armisen and Galatas, 2009). Agar tatsızdır ve hassas aromalara sahip gıda maddelerinde tespit edilemez (Naidu, 2000). Agarın tersine, jelleşmek için katyonların (alginatlar, kalsiyum veya karrajenatlar, potasyum) varlığına ihtiyaç duyan jelleştirici maddeler, katyonların karakteristik lezzetini maskeleyerek için güçlü tatlara sahip gıda maddeleriyle karıştırılmalıdır (Armisen and Galatas, 2009). Bu özellikleri göz önüne alındığında agar sadece stabilizatör ve jelleştirici ajan olarak değil, aynı zamanda şekerleme, kaplama, salata sosları ve jöle üretiminde de uzun süredir kullanılmaktadır. Jölelerde, reçellerde ve marmelat yapımında kullanılan agar, ürünlerin taşınma esnasında parçalanmasını önlemek için ve ayrıca bira, şarap ve kahve üretiminde berraklaştırıcı bir madde olarak kullanılır (Naidu, 2000). Ayrıca, doku tutarlılığını

korumak için et ve balık ürünlerine, yoğurt ve peynir gibi çeşitli süt ürünlerine, dondurmalara, soslara, şuruplara, konserve gıdalara ve ketçaplara eklenirler (Lim et al., 2018; Pandya et al., 2022). Bununla birlikte, agar, otoklavda 121 °C'nin üzerinde sterilizasyon gerektiren et konservelerinde hidroliz olmayacak kadar yeterli dirence sahiptir (Armisen and Galatas, 2009).

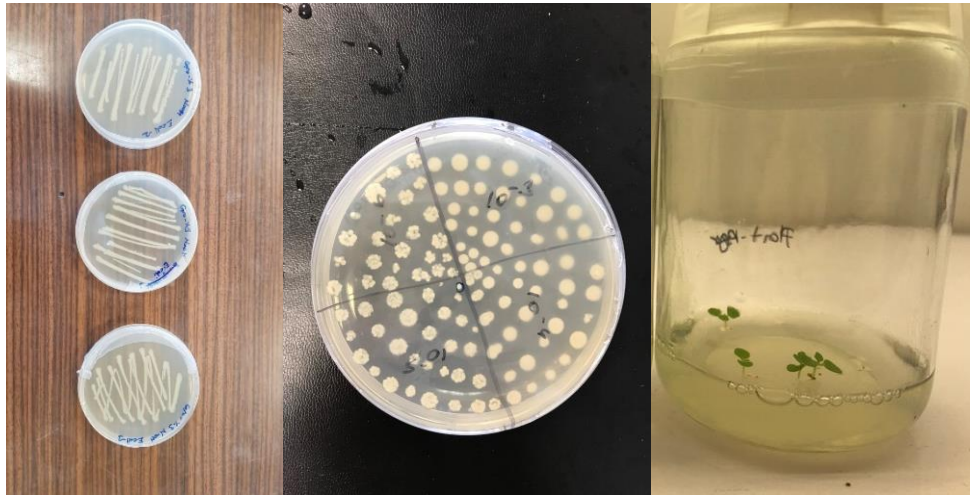
Agarın jelleşme kabiliyeti, gıda bileşimindeki bileşenlerin asitliği veya alkalinitesinden etkilenir. Narenciye ve çilek gibi asidik gıdalar daha yüksek miktarlarda agar gerektirirken, şekerle reaktivite gösteren Gracilaria agarlar, reçel ve jöle gibi yüksek şeker içeriğine sahip (%60 veya daha fazla) gıdalarda kullanıldığında jelleşme özelliklerinde artış yaşar (Naidu, 2000; Armisen & Galatas, 2009).

Agarın gıdada küçük bir bileşen olarak (%0,5 ila %1,5) kullanıldığı göz önüne alındığında, insan sindirim sistemi onu neredeyse hiç emmediği için besin katkısı düşüktür. Agar, yutulmanın %10'unun altında sindirilebilirliğe sahiptir. Bu nedenle agar, diyabet hastaları için diyet formülleri ve gıdalar hazırlamak için kullanılabilir. Çok düşük kalorili gıdalar oluşturan agar ile birlikte şeker yerine tatlandırıcılar kullanılarak formülasyonlar yapılabilir (Armisen and Galatas, 2009).

#### **1.7.1.2. Biyoteknoloji Alanındaki Kullanımı**

Kırmızı deniz yosunları tarafından üretilen agarlar, biyoteknoloji araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Lee et al., 2017). Mikrobiyal yetiştirme 1882'de R. Koch ile başlamıştır ve o zamandan beri kullanımı mikrobiyolojinin gelişmesiyle ilişkilendirilmiştir (Armisen et al., 1991). Çoğu mikroorganizma agarı sindiremediğinden, bakteri ve mantarların mikrobiyal kültürü için katı bir destek ortamı olarak kullanılırlar (Lee et al., 2017). Mantar kültürü için ticari olarak temin edilebilen Patates-dekstroz agar (PDA), Luria-Bertani (LB) agar ve Kanlı agar plakası (BAP) gibi mikroorganizmaların büyümesi için agara (toz şeklinde) birçok bileşen eklenir. Bakteriyolojik dereceli agarlar, stabil jelleşme ve erime sıcaklığına, jelin şeffaflığına, düşük miktarda elektronegatif gruplara ve oligomerlere sahiptir ve termofilik sporlar ve hemolitik maddelerle kontaminasyon içermezler (Armisen et al., 1991). Besin ortamına sağladığı nemli jel yapısı, agarı steril koşullar altında bitki doku kültürü için yaygın olarak kullanılan destekleyici bir ajan haline getirir (Lim et al., 2018). Agarın jelleşme özellikleri, bitki doku kültürünün yapılmasına elverişli katı ortam sağlar. Ortam, virüslerden arındırılmış çok sayıda

çeşitli bitkilerin büyümesi ve çoğaltılması üzere formüle edilir. Genellikle yetiştirilecek bitkilerin bitkisel meristemleri, bitki için arzu edilen köklenme ve/veya büyüme hızına bağlı olarak uygulanan oksinler veya sitokinler gibi hormonlarla zenginleştirilmiş yeterli bileşime sahip ortamlarda kültürlenir. Uygun bitki gelişimi sağlandığında, büyümelerine devam etmek için sebze toprağına aktarılırlar (Armisen and Galatas, 2009). Bütün agarın fraksiyonlanmasıyla hazırlanan saf agaroz; jel elektroforezinin rutin uygulamalarında, klinik teşhis testleri, moleküler biyoloji ve biyomedikal araştırmalarda kullanılmaktadır (Stanley, 2006). Agaroz, agaropektinden ayrıldığında yapısal olarak porlu bir özellik gösteren yüksüz bir molekül halini alır. Bu durum özellikle iyonik yüklere sahip DNA ve protein gibi maddelerin birbirinden ayrılmasına olanak sağlar. Özellikle polimeraz zincir reaksiyonları sonucunda elde edilen DNA parçalarının ayrılması ve izole edilmesi agaroz jel elektroforezine bağlıdır. Proteinlerde agaroz jel elektroforez içerisinde yürütülebilir ve iyonik yükleri ile molekül büyüklüklerine göre birbirinden ayrılabilir. Bu kullanım şekli agarozun özellikle rekombinant DNA teknolojisi ve enzim-protein çalışmalarının vazgeçilmez bir molekül haline gelmesini sağlamıştır (Armisen and Galatas, 2009). Ayrıca agaroz, jel filtrasyon kromatografisinde, farklı incelikte boncuklar veya reçineler oluşturularak da kullanılmaktadır. Bu agaroz bazlı boncukların ticari olarak temin edilebilen bazı örnekleri Sepharose, WorkBeads 40 SEC, Superose ve Superdex'tir. Ayrıca agaroz, immünodifüzyonda destekleyici bir materyal olarak kullanılabilir (Lim et al., 2018).



Şekil 1.4 Agarın mikrobiyolojide ve bitki doku kültüründe kullanımı

### 1.7.1.3. Diğer Kullanım Alanları

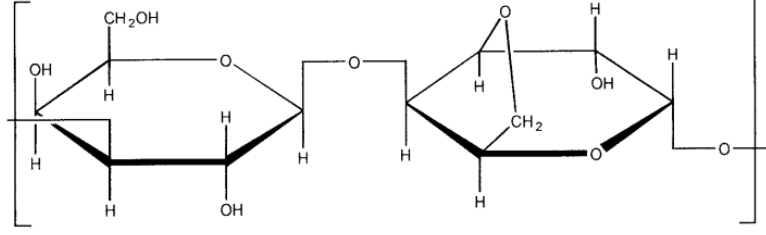
Agar, hacim artırıcı-kabartıcı bir etkiye sahip olduğu için uzun yıllardır ABD Farmakopesine müshil olarak dahil edilmiştir.(Armisen and Galatas, 2009) Bitkisel gıdalardaki selüloza benzer şekilde bağırsak yolundaki agar aktivitesi de mekaniktir ve bağırsak hareketlerinin düzenliliğine yardımcı olur. Bu yüzden kabızlık tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Naidu, 2000).

Protez diş hekimliğinde agar, diş alçılarının hazırlanmasında kullanılır. Agar ayrıca çok çeşitli kozmetik ürünlerinde jelleştirici bir bileşen olarak kullanılır (Naidu, 2000). Bazı ülkelerde arkeolojik parçaların alçıları veya heykeller için kalıplar hazırlamak için kullanılmaktadır (Armisen and Galatas, 2009).

Agar, larva ve diğer daha küçük boyutlu hayvan türlerinin üremesi için kullanılır. Yalnızca erken tomurcuklanan dut yapraklarıyla beslenebilen küçük ipekböceklerinin beslenmesinde kullanılmaktadır. Diğer tüm jelleştirici ajanlar ipekböcekleri tarafından reddedilen tatlara sahip olduklarından dolayı bileşimi için sadece agar kullanılabilir. Agarın başka bir klasik kullanımı, genetik araştırmalar için kullanılan *Drosophila melanogaster* gibi sineklerin larva fazlarını beslemek için benzer bir uygulamadır (Armisen and Galatas, 2009).

### 1.7.2. Agarın Moleküler Yapısı

Araki, agarın iki grup polisakkaritten oluştuğunu göstermiştir: nötr bir polisakkarit olan agaroz ve yüklü bir polisakkarit olan agaropektin (Matsushashi, 1990). Agaroz, sırayla 1,4 bağlantılı 3,6-anhidro- $\alpha$ -L-galaktopiranoz ve 1,3 bağlantılı  $\beta$ -D galaktopiranozdan oluşur. Agaropektin, D-galaktoz ve 3,6-anhidro-L-galaktoza ek olarak sülfürik, piruvik ve üronik asit kalıntıları içeren daha karmaşık bir yapıdır (Naidu, 2000). Agaroz ile karşılaştırıldığında, agaropektinin yapısı daha karmaşıktır ve iyi anlaşılmamıştır. Bununla birlikte şeker iskeleti de agarobiyoz omurgadan oluşmaktadır (Matsushashi, 1990).



Şekil 1.5 Agarın agarobiyoz yapısı (Naidu, 2000)

Agaroz, en düşük yük içeriğine ve bu nedenle en büyük jelleşme kabiliyetine sahip agar moleküllerinin bir karışımıdır. İyi bir ticari agarozun % 0.35'ten daha az sülfat içerdiği kabul edilir; piruvat içeriği de aynı şekilde çok düşüktür (Armisen et al., 1991). Aynı zamanda yüksek kaliteli agarlar yüksek oranda ikame edilmemiş agaroz içeriğine sahiptir (Usov, 2011). Agardaki agaroz oranı maksimum %75'e çıkabilmekle birlikte agaroz, agardan % 42 verimle ayrılabilir. (Öğretmen Y., 2015; Kraan, 2012)

Guisseley (1970), türevlendirilmemiş agarozların metoksil içeriği ile jelleşme sıcaklığı arasında doğrudan bir ilişki olduğunu göstermiştir; metoksil gruplarında %8'lik bir artış, %1,5'lük bir agaroz çözeltisinin jelleşme sıcaklığında 12 °C'lik bir artışa neden olmuştur (Armisen et al., 1991). Bazı galaktanlar,  $\beta$ -D-galaktoz'un C-6'sında ve 3,6-anhidro- $\alpha$ -L-galaktoz kalıntılarının C-2'sinde hafifçe metillenebilirken, 6. pozisyondaki agaroz metilasyonunun, karşılık gelen jellerin erime noktalarını artırdığı görülmüştür. Birkaç kırmızı alg türü, tamamen ikame edilmiş 2,6'-di-O-methyl-agaroses içerirler ve bu polisakaritlerin jelleri, erime noktaları suyun kaynama noktasından daha yüksek olduğu için sadece basınç altında eritilebilirler (Usov, 2011).

Jel benzeri agar fraksiyonları olan agarozlar tipik olarak 150.000 Dalton'u aşan büyük moleküler ağırlıklara sahiptirler. Agaropektinin molekül ağırlığı ise yirmi bin Dalton'dan az, genellikle yaklaşık 14.000 Dalton'dur (Pandya et al., 2022).

### 1.7.3. Agar Üretim Yöntemleri

Agar ekstraksiyonu işlemi beş aşamaya ayrılır: (1) yosunun yıkanması, kurutulması ve kimyasal işlem uygulanması; (2) agarın ısıtılarak ekstraksiyonu; (3) deniz yosunu kalıntılarını gidermek için süzme; (4) agar jelin soğutulması, dondurulması ve çözülmesi ve (5) oluşan katı agarın yıkanması, ağartılması ve kurutulması işlemleridir (Lee et al., 2017). Yüksek kaliteli agar, Gelidium cinsine ait bir deniz yosunundan ekstrakte edilir, ancak Gelidium doğal popülasyonlarının aşırı

kullanımı ve Gracilaria deniz yosununun büyük ve artan popülasyonu, Gracilaria deniz yosununun ana agar kaynağı olmasına neden olmuştur (Öğretmen ve Kaya, 2019; Rodríguez et al., 2009).

Gracilaria'dan ekstrakte edilen agar polisakkaritlerinin, Gelidium ve Pterocladia'dan ekstrakte edilen agar ile karşılaştırıldığında daha yüksek bir sülfatlama derecesine sahip olduğu rapor edilmiştir (Murano, 1995). Sülfat sübstitüenti esas olarak esterleşme yoluyla 4-bağlı-L-galaktozun C-6'sında meydana gelir. L-galaktoz-6-sülfat ilk olarak kırmızı alglerde 3,6-anhidro-L-galaktozun biyolojik bir öncüsü olarak sentezlenir, ardından sülfhidrolizler yoluyla bir anhidro forma enzimatik dönüşüm yapılır (Lee et al., 2014). 3,6-anhidro-L-galaktoz kalıntısı galaktoz-6-sülfat ile değiştirildiğinde sarmalda bükülmeler oluşur, böylece Gracilaria'dan düşük jel mukavemetli bir agar oluşumunu indükler (Lee et al., 2017). Ortaya çıkan konformasyonel değişiklikler, agar ekstraktlarının jelleşme kabiliyetini belirleyen üç boyutlu jel yapısının oluşumu için çok önemlidir (Lee et al., 2014). Gracilariadaki sülfat gruplarını ortadan kaldırmak için agar ekstraksiyon adımından önce alkali muamelesi yapılır (Freile-Pelegín and Robledo, 1997; Pereira-Pacheco et al., 2007). Bu alkali muamelesiyle birlikte  $\alpha$ -L-galaktopiranoz-6-sülfatın bir kısmı 3,6-anhidrogalaktoza (3,6-AG) dönüştürülerek jel kuvveti artırılmış olur (González-Leija et al., 2009). Gracilaria türleri için optimal alkali konsantrasyonu %3 ila %10 aralığındadır. Yüksek sıcaklıklarda (80 ila 90 °C) kısa bir süre (0,5 ila 3 saat) muamele edilen çoğu Gracilaria türünün daha yüksek jel kuvvetine sahip agar ürettiği bulunmuştur (Lee et al., 2017).

Deniz yosunun içerisindeki agar, alkali muamelesi sırasında çözünebileceğinden elde edilen agar veriminde önemli kayıplar olabilir (Mchugh, 2003). Bu yüzden Gracilaria'nın agar ekstraksiyonu sürecindeki genel adımlar bilinmesine rağmen agar verimini ve kalitesini optimize etmek için ekstraksiyon değişkenlerini standartize etmek gereklidir (Kumar and Fotedar, 2009). Birçok literatür, maksimum verim, yüksek jel mukavemeti ve minimum sülfat içeren agar üretmek için agar ekstraksiyon sürecinin optimize edilmesinin önemini göstermiştir (Rodríguez et al., 2009). Dikkate alınması gereken önemli bir nokta da ekstrakt soğutulduğunda agarın çözünmezliğine dayalı yöntemler ile kurutularak agarın eldesidir (Mchugh, 2003). Bugüne kadar literatürde agarın genelde dondur-çöz (Freeze-Thaw) yöntemine dayanarak elde edildiği görülmektedir (Yousefi et al., 2013; Freile-Pelegín and Robledo, 1997;

Freile-Peegrín et al., 1995; Ogretmen vd., 2018;2019; Yenigül, 1993; 2001; Armisén and Galatas, 2009; Song et al., 2012; Hernández et al., 2013; Santos, 1990; Murano, 1995). Dondur-çöz yöntemi; jel haline gelen %1 ila %1.2 arasında agar içeren deniz yosunlarından elde edilen ekstraktın dondurulup çözülmesini ve ekstraktın içerdiği suyun büyük bir kısmını ortadan kaldırmak için agarın soğukta çözünmezliğinden yararlanılmasını içerir (Pandya et al., 2022). Hem buz kristallerinin oluşmasına hem de agarın mümkün olan en yüksek konsantrasyonda ayrılmasına izin vermek için dondurma yavaş olmalıdır. Donma sürecinin hızlandırılması, yüksek su içeriğine ve daha az agar konsantrasyonuna sahip süngerimsi maddeler üretir. Bu da saf olmayan agar üretimine sebep olur (Mchugh 2003). Donma-çözme prosesi sonrasında sıcak hava ile çalışan fırınlarda kurutma işlemi uygulanan katı haldeki agar, daha sonra değirmenlerde öğütülerek istenilen tanecik boyutuna getirilir. Klasik dondur-çöz yöntemi, nispeten kolay bir üretim süreci sunmasına karşın, enerji açısından verimsizdir. Ayrıca elde edilen son ürün jelimsi bir madde halinde olduğundan, öğütülerek homojen bir madde haline getirilmesi oldukça zordur. Bu nedenle agarın alternatif üretim yöntemlerinin araştırılması ve sanayi boyutunda üretim için optimize edilmelidir.

Sinerez, jelden sıvıyı çıkarmak için basıncın kullanıldığı süreçtir (Mchugh 2003). Sinerez yönteminde, yeterli bir kuvvetin uygulanmasıyla absorbe edilen suyun ayrılmasına izin veren kolloidlerin jelleşme kalitesi kullanılır. Suyun jelden ayrılması için, ekstrakt sıkı bir ağ ile bezler içinde paketlenir ve taş blokların altında ezilir. Bu adımdan sonra, kalan suyun çıkarılması için küçük hidrolik presler ile ezilir. Dondur-çöz gibi geleneksel teknikler, sinerezden daha maliyetlidir. Preslemeden sonra kuru ekstraktın ağırlığı, dondur-çöz yönteminde %11 iken sinerez ile agar üretiminde %20'dir. Agar dondurulduğunda, su içeriği iki katına çıkarak safsızlıkları hapseder, sinerez ise çözünür kontaminantları uzaklaştırır (Pandya et al., 2022).

Dondurarak kurutma (liyofilizasyon), çözücünün (genellikle su) ve/veya süspansiyon ortamının düşük bir sıcaklıkta kristalleştirildiği ve daha sonra katı halden doğrudan buhar fazına süblime edildiği bir kurutma işlemidir. Uygulama alanı, nispeten basit korunabilir gıdalardan, karmaşık biyoteknolojik ve farmasötik ürünlere, çoğalan bakteri ve mantarlara kadar uzanmaktadır (Cieurzyńska and Lenart, 2011). Dondurarak kurutma, çok çeşitli sayıda ısıya duyarlı ürünlerin güvenilir şekilde korunması için kullanılır. Yüksek güvenilirlik ve kontrol standartlarını gerektirir.

Geleneksel kurutma yöntemleriyle karşılaştırıldığında, dondurarak kurutmanın temel faydaları; morfolojik, biyokimyasal özelliklerin korunması, yüksek verim, uzun raf ömrü ve depolama, nakliye ve taşıma için daha düşük ağırlık gibi sıralanabilir. Bu avantajlarına rağmen dondurarak kurutma, büyük miktarda enerji tüketimi ve hem işletme hem de bakım maliyetlerinin yüksek olması nedeniyle kurutulmuş bir ürün üretmek için her zaman en pahalı işlem olarak kabul edilmiştir (Liu et al., 2008). Dondurarak kurutma ile 1 kg suyu uzaklaştırmak için gereken temel enerji geleneksel kurutmaya göre neredeyse iki kat daha fazladır. Ek olarak, hava ile kurutma ile karşılaştırıldığında dondurarak kurutmanın maliyeti 4-8 kat daha yüksektir (Ciużyńska and Lenart, 2011).

Püskürterek kurutma (spray-dryer), ekstraktın sıcak bir kurutma ortamına püskürtülerek ekstraktın sıvı halden kurutulmuş parçacık formuna dönüştürülmesini sağlar. Sürekli bir parçacık işleme kurutma işlemidir. Kurutulmak istenen sıvı; bir çözelti, süspansiyon, dispersiyon veya emülsiyon olabilir. Kurutulan ürün, verilen sıvının fiziksel ve kimyasal özelliklerine ve istenen toz özelliklerine bağlı olarak toz, granül veya aglomera şeklinde olabilir. Hem ısıya dayanıklı hem de ısıya duyarlı ürünlerde kullanılabilir (Patel et al., 2009).

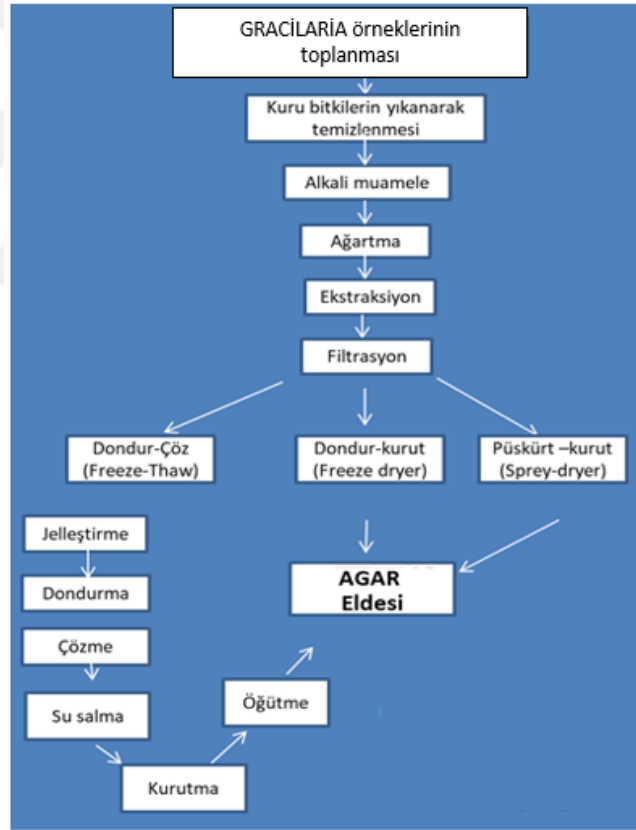
Uygun bir cihazla küçük parçacıklar halinde püskürtülen sıvı, yeterli sıcaklıkta bir kurutma gazı ile etkileşime tabi tutulur. Bu kurutma aşaması sırasında dispersiyon damlacıkları içinde bulunan solvent buharlaşır, bu da katı ürün parçacıklarının oluşmasına neden olur. Son aşamada, kurutulmuş partiküller kurutma gazından ayrılır ve son ürün bir toplama tankında toplanır (Cal and Sollohub, 2010).

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

*Gracilaria verrucosa* örnekleri Marmara denizine kıyısı bulunan İzmit, İstanbul ve Yalova sahillerinden balıkçıların yardımı ile toplanarak yaş halde Ondokuz Mayıs Üniversitesine transfer edilmiştir. Toplanan örnekler su geçiren torbalara konularak fazla suyun akması sağlanmış, daha sonra güneşli bir ortama yayılmıştır. Arada karıştırılarak homojen bir kuruluğa ulaşılması sağlanan kuru örnekler 50 gramlık parçalara ayrılarak poşetlenmiş ve işlem görene kadar kuru koşullarda depolanmıştır.

### 2.1. Agar Ekstraksiyonunun Optimizasyonu

Çalışmada ilk olarak toplanan *Gracilaria* örneklerinden agarın izole edilme aşaması optimize edilmiştir. Bu aşama daha önce birçok çalışmada detaylı olarak araştırılmış ve Resim 2.1’de belirtildiği üzere belirli kısımlara ayrılmıştır.



Şekil 2.1 *Gracilaria* yosunlarından agar eldesi aşamaları

Yıkama; toplanan örnekler üzerinde kum, başka yosunlar ve deniz kabukları bulunduğu için kırmızı yosunlar işleme alınmadan önce 50 gram tartılıp daha sonra çeşme suyu altında 10 dakika yıkanır.

Alkali muamele; daha önceki çalışmalar kırmızı yosunların hücrelerinde depolanan agarın serbest kalması için asidik yada bazik ortamda belli bir süre bekletilmesi önerilmektedir. Ancak bu süreç türden türe hatta yetişen bölge özelliklerine göre değiştiğinden bu aşamanın optimize edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle çalışmada çeşme suyu altında iyice arındırılan yosunlar, 70 °C’de 1 saat %0, %0,5, %1, %3, %6 ve %12’lik NaOH solüsyonlarında bekletilmiştir.

Ağartma; alkali işlemine tabi tutulan kırmızı yosun örnekleri çeşme suyu altında iyice yıkanarak NaOH’tan arındırılması sağlanmıştır. Daha sonra %0, %1, %2, ve %5 oranlarında 15 dakika çamaşır suyu (NaClO) solüsyonunda bekletilmiştir.

Kaynatma: İyice yıkanıp çamaşır suyundan arındırılan örnekler, 20 katı hacimde su eklenerek 1,5 saat kaynatılmıştır.

Filtrasyon; kaynatma sonucu elde edilen solüsyon sıcakken french pressten süzülmüştür.

### **2.1.1. Dondur-Çöz (freze-thaw) Yöntemi ile Kurutma:**

Kırmızı yosunlardan agar üretimi bugüne kadar genelde klasik yöntem olan dondur-çöz sayesinde yapılmıştır. Gerek Türkiye gerekse dünyada yapılan çalışmalarda bu yöntemin agar verim ve kalite parametrelerinin iyileştirilmesi için kullanılmıştır. Bu çalışmada da toplanan kırmızı yosunlardan öncelikle bu klasik yöntemle agarın üretilmesi sağlanmıştır.

Bunun için;

a. Filtrasyondan sonra elde edilen sıcak solüsyon uygun kaplara dökülerek jelleşmesi sağlanmış,

b. Oda sıcaklığında jelleşen ekstraktlar -20 C’ye kaldırılmış ve 24 saat donması için beklenmiş

c. Donan örnekler oda sıcaklığında çözdürülerek agarın dehidrasyonu sağlamış,

d. Elde edilen agarın oda sıcaklığında iyice kurutulması sağlanmış,

e. Tamamen kurutulan örnekler kahve makinesi öğütücüsünde çekilerek toz haline getirilmiştir.

Agar ekstraksiyonu aşamasında özellikle verim ve kalite açısından en uygun alkali ortamın ve çamaşır suyu kombinasyonunun tespit edilmesi sağlanmıştır. Her bir denemeden sonra elde edilen jel miktarı, jelin yoğunluğu, kalan bitkisel artığın ağırlığı ölçülerek agar izolasyonu için en uygun alkali muamelenin ve ağartma oranının tespit

edilmiştir.

### **2.1.2. Agarın Toz Hale Getirilmesinde Alternatif Teknolojilerin Kullanılması**

Nispeten ucuz olmasına karşın geleneksel dondur-çöz yönteminin de hem maliyet hem de agar kalitesi üzerinde negatif sayılabilecek etkileri mevcuttur. Özellikle agar jellerinin tam kurmamasından ve süngerimsi bir hal almasından dolayı öğütürerek toz haline getirmede önemli sıkıntılar yaşanmaktadır. Bu yöntem ile parça boyutunun yeterince küçültülememesi agar ve jellerin homojen olmamasına ve kalitesinin düşük olmasına neden olmaktadır. Bu nedenle çalışmada başka kurutma yöntemlerinin agar üretiminde etkinliği test edilmiştir.

#### **2.1.2.1. Liyofilizasyon Yöntemi ile Agar Örneklerinin Kurutulması**

a. Filtrasyondan sonra elde edilen agarlı solüsyon oda sıcaklığında jelleştirilerek parçalara ayrılmış,

b. Tüm agar jel blokları -20 °C’de dondurulmuş, ardından -80 °C buzdolabına alınarak sıcaklığın bir gün boyunca iyice düşürülmesi sağlanmıştır.

c. Jel parçaları Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama merkezinde (KİTAM) bulunan Rotalab marka liyofilizatör içerisine konarak (-50 °C) 1mmhg basınç altında tam kuruluğa ulaşması sağlanmıştır. Kuruyan örnekler kahve çekirdeği öğütücüsünden geçirilerek toz haline getirilmiştir.

#### **2.1.2.2. Spray-Dryer Yöntemi ile Agar Örneklerinin Kurutulması**

Bu yöntem agar elde edilmesinde daha önce çalışılmamış bir yöntem olup ilk defa optimize edilmiştir. Çalışmada Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma Ve Uygulama Merkezi’nde (KİTAM) bulunan Unopex B 230 marka pilot ölçekte üretim yapan spray dryer kullanılmıştır.

Bunun için;

a. Filtrasyon aşamasında elde edilen sıcak agarlı solüsyon doğrudan spray dryera verilmiş,

b. Pompa hızı 8 l/s hızına ve giriş sıcaklığı 155 °C ye ayarlanarak kurutma yapılmıştır.



Şekil 2.2 Spray dryera verilmiş agar ekstraktı ve sıcaklık-pompa değerleri

Agarın dondurulmadan doğrudan toz haline getirilmesini sağlayan bu yöntem zaman ve enerji açısından avantajlı olup, verim ve kaliteyi en üst düzeye çıkarma potansiyele sahiptir. Bu çalışma ile agarın ilk defa liyofilizatör ve spray-dryer yöntemleri ile üretilmeleri ve klasik dondur- çöz yöntemi ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu yöntemlerden özellikle püskürt-kurut yöntemi agarın endüstriyel ölçüde üretimi için son derece uygun olup, dünyada bu tür bir üretimin optimize edildiği ilk çalışmadır.

## 2.2. Agar Veriminin Hesaplanması

Elde edilen agar miktarı (B) ekstraksiyonda kullanılan yosun miktarına (A) bölünerek yüzde agar verimi hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Agar verimi} = B/A \times 100$$

## 2.3. Agar Jel Gücünün Hesaplanması

Jel kuvveti, 5 mm yarıçaplı silindirik bir prob ile donatılmış 5 kg'lık bir yük hücreli bir doku analizörü (TA-XT2 Stable Micro Systems Co., Ltd., Surrey, UK) kullanılarak 25 °C'de belirlenmiştir. Bunun için agar solüsyonları (%1,5, w/v) kaplara (32 mm çap ve 30 mm yükseklik) aktarılmış ve 24 saat buzdolabında (4°C) inkübe edilmiştir. Jeller, analizden önce oda sıcaklığında (25 °C) dengelenmiştir. Doldurulan kaplar platform merkezine yerleştirilmiş; 1mm/sn test hızı ve 10 mm penetrasyonda kompresyon testi uygulanmıştır. Bu süreçte maksimum kuvvet kaydedilmiş ve jel

kuvveti  $g/cm^2$  olarak ifade edilerek hesaplanmıştır.

#### 2.4. Agarda Jelleşme-Erime Sıcaklığının Tayini

Agar numunelerinin jelleşme ve erime sıcaklıkları Wang et al. (2017)'de belirtildiği şekilde yapılmıştır. Jelleşme ve erime sıcaklıklarını hesaplamak için numunelere bir reometre (HAAKE Mars III; Thermo Scientific, Almanya) ile Salınlı T-Rampı uygulanmıştır. Agar solüsyonuna ait (%1.5, w/v) jelleşme ve erime sıcaklıkları için sırasıyla 80'den 10°C'ye soğutma ve 10'dan 100 °C'ye ısıtma yapılmıştır. Ölçüm 2 °C/dk tarama hızında, 1 Hz frekansta ve 5 Pa salınlım stresinde gerçekleştirilmiştir. Deney sırasında buharlaşmayı önlemek için ısıtma plakası silikon yağı ile kaplanmıştır. Jelleşme ve erime sıcaklık analizleri için Rheowin-v4.20 programı kullanılmıştır.



Şekil 2.3 Reoloji cihazına konulan agar örnekleri

#### 2.5. Agarda pH Tayini

Agarda pH tayini, Atay (1978)'in belirttiği metoda göre yapılmıştır. Buna göre 4 gr agar 18 °C lik çeşme suyunda 30 dakika yıkanmıştır. Sonra örnek 100 ml saf su bulunan erlenmayere alınıp ağzı mantarla kapatılarak  $21 \pm 2$  °C'de 24 saat bekletilmiştir. Elde edilen eriyik pH ölçümünde kullanılmıştır.

#### 2.6. Agarda Ham Kül Tayini

Agarda kül tayini Sukatar (2002)'nin belirttiği metoda göre yapılmıştır. Buna göre 1 gr agar, porselen krozede 600 °C de elektrikli fırında 3 saat yakılmış ve

ağırlığındaki oransal değişim % olarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{Toplam Kül Miktarı} = (M2-M1)/M \times 100$$

M = Örnek miktarı

M1 = Boş krozenin ağırlığı

M2 = Yakmadan sonraki kroze + kül ağırlığı

## 2.7. Renk Ölçümü

Renk analizi Konica Minolta Masaüstü Spektrofotometre CM-5 cihazı ile ölçülmüştür. Agar örnekleri uygun miktarda cihaza konularak ölçümü yapılmıştır. Renk ölçüm sonuçları Uluslararası Aydınlatma Komisyonu tarafından geliştirilen yöntemle göre L\*, a\* ve b\* değerleri ile ifade edilmiştir. L\*; parlaklık 0 değeri siyah, 100 değeri beyaz, a\*;-a\* değeri yeşil, +a\* değeri kırmızı, b\*;-b\* değeri mavi, (b\*) değeri sarı renklerini tanımlamaktadır.



Şekil 2.4 Renk ölçüm cihazına konulan agar örnekleri

## 2.8. Partikül Boyutu Ölçümü

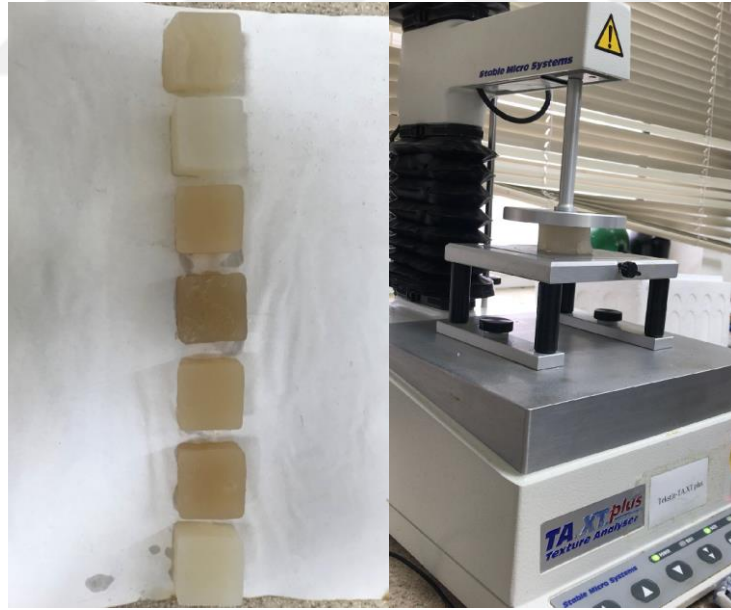
Molekül ağırlığı: 336 g/mol; kırılma indisi: 1,34; yoğunluk: 0,55 g/cm<sup>3</sup> olarak belirlenen agar numunelerinin partikül ölçüm boyut dağılım ölçümleri; Malvern Mastersizer 3000 (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, İngiltere) cihazı ile distile suda dispersiyon yöntemi kullanılarak KİTAM'da gerçekleştirilmiştir. Ölçüm sonuçları, hacimsel dağılım değerlerini göstermektedir.

## 2.9. Kırmızı Yosunlarından Elde Edilen Agarın Gıda ve Biyoteknolojik Kullanımının Test Edilmesi

### 2.9.1. Gıda Alanında Kullanımının Test Edilmesi

#### 2.9.1.1. Agar Tekstür Analizi ile Sertlik, Yapışkanlık, Viskozite, Elastiklik ve Bağlılık Ölçümleri

Tekstür profil analizi, tekstür analiz cihazına (TA-XT plus Stable Microsystems, Godalming, Surrey, UK) bağlanan baskı plakası altında, %3'lük agar bloklarının arka arkaya iki kez sıkıştırılması ile gerçekleştirilmiştir. Agar çözeltileri 32 mm kenar uzunluğuna sahip küp kaplarda 4 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra numunelerin doku profili analizi, silindirik bir prob (P100) kullanılarak bir doku analizörü (TA-XT2 Stable Micro Systems Co., Ltd., Surrey, UK) ile elde edilmiştir. TPA analizi aşağıdaki koşullarda gerçekleştirilmiştir; ön test hızı: 1 mm/sn; test hızı: 5 mm/sn; post hızı 8mm/sn ve %20 gerinme. Ölçümlerden sonra TPA parametreleri (sertlik, yapışkanlık, yaylanma, kohezyon, yapışkanlık, çiğneme, esneklik) kaydedilmiştir.



Şekil 2.5 Tekstür cihazına konulan agar örnekleri

#### 2.9.1.2. Viskozite Ölçümü

Agar numunelerin viskozite ölçümü reometre (HAAKE Mars III; Thermo Scientific, Almanya) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Her ölçümden önce numunelerin dengelenmesi için 2 dakika beklenmiştir. Deneyler, koni plakalı (35 mm çap, 0.104

mm boşluk, 2° açı) geometri kullanılarak 60 °C'de gerçekleştirilmiştir. Ölçümler 0.1-300 s<sup>-1</sup> kesme hızında 3 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir. Numunelerin görünür viskozitesi (50 s<sup>-1</sup>) (cp) santipoise cinsinden değerlendirilmiştir.

### **2.9.1.3. Agar İçerisindeki Ağır Metal Oranı**

Agarın gıda maddesi olarak kullanılması için içerisindeki ağır metal birikiminin olmaması ya da belirlenen değerlerden aşağıda olması gerekmektedir. Çalışmada elde edilen agarın özellikle gıda olarak kullanılması için arsenik oranının 3 mg /kg ve kurşun oranının 5 mg/kg'dan az olması gerekmektedir. Bu nedenle farklı kurutma yöntemleri ile elde edilmiş agar örnekleri içerisindeki arsenik, kurşun, civa, kadmiyum gibi ağır metal kirliliği EPA 6010 C methoda göre Ağrı Üniversitesi Merkezi laboratuvarında rutin olarak kullanılan ICP OES Axial cihazı kullanılarak yapılmıştır.

### **2.9.1.4. Agarda Sülfat Miktarı Tayini**

Agar, KBr ile karıştırılmış ve ince dilimler halinde tabletlenmiştir. FT-IR spektrumları, oda sıcaklığında 4000 cm<sup>-1</sup> ila 500 cm<sup>-1</sup> arasındaki dalga sayılarında Thermo Model Nicolet IS50 FT-IR (ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Sülfat içeriği 805-820 ve 845 dalga boylarında açığa çıkan sülfat titreşimlerine göre ticari agar ile karşılaştırılarak Chen ve ark. yaptıkları çalışmaya göre yapılmıştır. (Chen et al., 2020)

## **2.9.2. Biyoteknolojik Alanda Kullanımının Test Edilmesi**

### **2.9.2.1. Mikrobiyolojik Kullanımının Test Edilmesi**

Mikrobiyolojik besiyeri içeriğinde maya özütü 5 gr/L, Pepton 10 gr/L, NaCl 10 gr/L, agar agar 15 gr/L pH=7 olacak şekilde hazırlanmış ve otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilmiştir. 45-50 °C'e soğutulan çözelti steril petrilere 12,5'er mL şeklinde dökülmüştür. Hazırlanan besiyerlerine Bacillus, E. coli, Pseudomonas, Staphylococcus bakterileri ekilip, büyüme parametreleri ticari besiyeri ile karşılaştırılmıştır.

### **2.9.2.2. Bitki Doku Kültürü Kullanımının Test Edilmesi**

Bitki doku kültürü için MS besiyeri 1 litreye 4,4 gr MS basal salt, 30 gr Sükroz, 7 gr agar agar, pH=5,7 olacak şekilde hazırlanıp 121 °C'de 15 dakika sterilize edilerek 25'er ml şeklinde boş magentalara dökülmüştür. Daha sonra kültürü yapılacak tütün tohumları falkona transfer edilip, %70'lik etanol ile 1 dakika karıştırılarak beklenmiştir. Ardından alkol uzaklaştırılmış ve %20'lik sodyum hipoklorit ile 20

5 dakika sterilizasyon yapıp, 5 kez saf su ile yıkanmıştır. Kurutma kağıdı üzerinde fazla su uzaklaştırıldıktan sonra MS basal salt besiyeri içerisine ekilmiş ve 25 °C’de iklim odasında büyüme bırakılmıştır.

### **2.9.2.3. Agaroz İzolasyonu ve Biyoteknolojik Kullanımı**

Çalışmada en yüksek jel kuvvetine sahip Gracilaria agarından Provonchee 1991’de belirtilen protokole göre agaroz izolasyonu gerçekleştirilmiştir. 250 ml suya 10 gram toz haldeki agar katılarak 105 °C’de iyice çözünmesi sağlanmıştır. İyice çözünen agar çözeltisine 100 gram PEG 6000 eklenmiş ve çözelti 1 saat karıştırılmıştır. Oda sıcaklığına gelen çökelti -20 °C’ye alınarak 1 gece bekletilmiştir. Daha sonra içerisine 250 ml soğuk izopropanol eklenerek 2 saat karıştırılmıştır. Karışım bir gece -20’de bekletilmiştir. Ertesi gün karışım yeniden süspanse edilerek santrifüj yapılmış ve elde edilen çökelek gece boyu saf suda yıkanmıştır. Son kez izopropanolden geçirilen agaroz çökeltisi 55 °C ‘de kurutulmuştur. Agaroz kurutulduktan sonra %1.5’luk konsantrasyonda olacak şekilde TAE tamponu içinde hazırlanmıştır. PZR ürünü ve 1 kb’lık ladder 100 Volt 45 dakika yürütülmüş ve ticari agarozla karşılaştırılmıştır.

### **3. BULGULAR VE TARTIŞMA**

#### **3.1. Agar Ekstraksiyonunun Optimizasyonu ve Kurutma Yöntemlerinin Test Edilmesi**

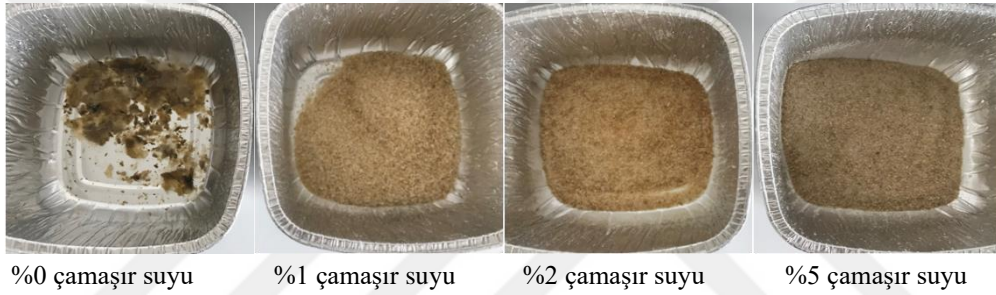
Çalışmada Gracilaria cinsi kırmızı yosunlardan öncelikle dondur-çöz yöntemi ile agar elde edilmiş, ardından elde edilen agarların kalite parametreleri ortaya konmuştur. En iyi kalitedeki agar üretim konsantrasyonu optimize edildikten sonra püskürt-kurut ve dondur-kurut teknolojilerinin agar üretimindeki potansiyel kullanımları araştırılmıştır.

##### **3.1.1. Ülkemiz Kıyılarından Toplanan Kırmızı Yosunlardan Dondur-Çöz Yöntemiyle Agar Üretiminin Optimize Edilmesi**

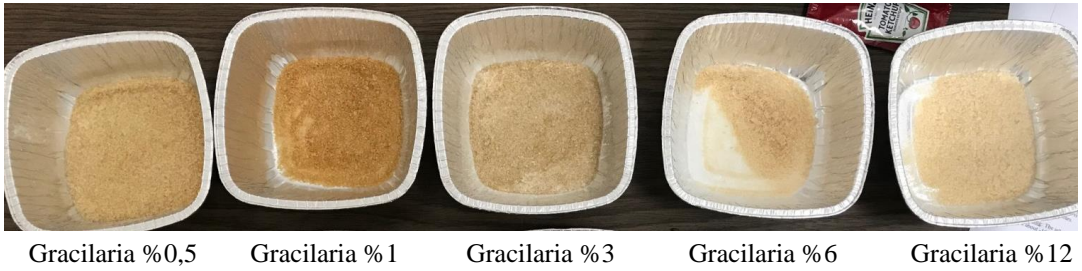
Ağartma adımı, agarın hücreden ekstraksiyonu için gerekli bir adım olduğundan öncelikle optimum çamaşır suyu konsantrasyonu ticari agara göre karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Sadece dondur-çöz yöntemi ile elde edilen agarlarda karşılaştırma sonucu, en iyi çamaşır suyu konsantrasyonu %26,266 ±3,16 verim ve 133,9±28,5 g/cm<sup>2</sup> jel kuvvetiyle %5'lik çamaşır suyu olarak bulunmuştur. Buna bağlı olarak optimum alkali konsantrasyonu ise jel kuvveti ve verim parametrelerine göre hesaplanmıştır. Tablo 3.1'de verildiği gibi jel kuvveti maksimum %6 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan örnekte 861,2±168,6 g/cm<sup>2</sup>, verim ise maksimum %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan örnekte %19,23±3 bulunmuştur. Bu bilgiler ışığında en iyi alkali konsantrasyonu %3 ve %6 olarak belirlenmiş, Gracilaria yosunlarına %3 NaOH+%1 çamaşır suyu, %6 NaOH+%1 çamaşır suyu, %3 NaOH+%2 çamaşır suyu ve %6 NaOH+%2 çamaşır suyu konsantrasyonları uygulanarak agar elde edilmiş, daha sonra bu örnekler karşılaştırılmıştır.

Tablo 3.1 Gracilaria'dan elde edilen agarların kalite parametrelerinin ticari agar ile karşılaştırılması:

Naoh	Ç.s.	Verim (%)	Jel kuvveti	Jelleşme sıcaklığı	Erime sıcaklığı	pH	Ham kül
%0	%0	7,352 ±1,33	-	-	-	-	-
%0	%1	16,207 ±10,1	200,8±52,4	-	-	4,68±0,5	2,1±0,1
%0	%2	17,136±10,9	174,9±43,3	-	-	4,43±0,6	2,3±0,3
%0	%5	26,266±3,16	133,9±28,5	-	-	4,57±0,5	1,6±0,1
%0,5	%5	16,57±6,8	321,4±72,2	33,75±0,2	95,33±0,1	4,79±0,9	1,8±0,4
%1	%5	16,64±4,3	326,5±122	40,4±1,5	82,8±1,9	5,47±1,7	1,4±0,4
%3	%5	19,23±3	376,7±163,3	33,7±8,7	80,2±6,7	4,55±0,1	1,75±0,1
%6	%5	5,69±2,6	861,2±168,6	41,7±5	85,6±0,3	6,27±1	1,45±0,5
%12	%5	14±5,3	609,4±86,7	38,4±1,1	83±3	5,77±1	2,2±0,4
%3	%1	9,5±3	1023,8±36	39,9±2,4	82,6±3,4	5,77±1,1	1,05±0,4
%6	%1	9,5±1,2	848,8±70,7	36,4±12,2	81±5,5	5,33±0,2	2,6±0,3
%3	%2	6,6±0,4	209±38,8	37,7±1,3	82,1±1,9	5,6±0,5	2,25±0,5
%6	%2	11,2±2,9	580,7±43,7	38,1±4,9	81,2±1	6,34±0,2	2,55±0,5
<b>Ticari agar</b>			1336,5±54,6	33,6	95,4	6,98±0,7	2,25±0,1



Şekil 3.1 Farklı konsantrasyonlarda sadece çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunlarından elde edilen agarlar



Şekil 3.2 %5 çamaşır suyu uygulanmış farklı NaOH konsantrasyonlarından elde edilen Gracilaria agarları



Şekil 3.3 Sırasıyla Gracilaria %3 NaOH+ %1 çamaşır suyu, Gracilaria %3 NaOH+ %2 çamaşır suyu, Gracilaria %6 NaOH+ %1 çamaşır suyu ve Gracilaria %6 NaOH+ %2 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunlarından elde edilen agarlar

### 3.1.1.1. Agar Verimi:

Optimizasyon aşamasındaki *Gracilaria* yosunlarından elde edilen agarların verimi Tablo 3.1’de verilmiştir. Sonuçlar; alkali ön işlemleri uygulanmamış örneklerin alkali ön işlemleri uygulanmış örneklerle göre daha yüksek verimde (%) olduğunu göstermiştir. Hiç işlenmemiş(doğal) *Gracilaria* örnekleri  $7,352 \pm 1,33$  verime sahip iken sadece çamaşır suyu uygulanmış *Gracilaria* örneklerinin verimi  $16,207$  ile  $26,266$  arasında, çamaşır suyuyla beraber alkali uygulanmış *Gracilaria* örneklerinin verimi  $5,69$  ile  $19,23$  arasında değişmektedir. Sadece çamaşır suyu uygulanmış örneklerde en fazla verim %5’lik çamaşır suyu uygulanmış olan örneklerde ( $26,266 \pm 3,16$ ), alkali+çamaşır suyu uygulanmış örneklerde ise en fazla verim %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanmış örneklerde ( $19,23 \pm 3$ ) görülmüştür. Çamaşır suyu konsantrasyonu verimle pozitif korelasyon göstermişken, *Gracilaria* yosunlarına NaOH uygulanmasının verimi azalttığı görülmüştür. Literatürde yer alan bazı *Gracilaria* türlerine ait olan agar verimleri Tablo 3.2’de verilmiştir. Tabloya göre en düşük agar verimi *G.corticata* türünde  $3,5$  olup, en yüksek agar veriminin *G.cliftonii* türünde  $51,9$  olduğu bulunmuştur. Yarnpakdee ve arkadaşları (2015), *Gracilaria tenuistipitata* doğal agarının verimini  $17,1 \pm 1,6$  bulurken, %3 NaOH alkali ön işlemleri uygulaması ile agar verimi  $26,1$ ’e yükseldiğini hesaplamışlardır. Priboon ve ark. (2006), %5 NaOH ile ön işleme tabi tutulan *G. fisheri* ve *G. edulis*’ten ekstrakte edilen agarların, doğal agarlara ( $10,9-13,3$ ) kıyasla daha yüksek verim ( $34,3-39,6$ ) gösterdiğini bulmuşlardır. Yousefi ve arkadaşları (2013), *Gracilaria corticata* yosununa uygulanan %1 NaOH alkali muamelesiyle elde edilen agarın verimini  $6,48$  bulurken, %3 NaOH alkali muamelesiyle verimin  $5,38$ ’e, %5 NaOH alkali muamelesiyle  $3,54$ ’e düştüğünü bulmuşlardır.

Mevcut bulgular, alkali muamelelerinin agar verimini azaltarak agar özelliklerini etkilediğini doğrulamaktadır (Armisen, 1995; Yousefi et al., 2013). Agar verimindeki bu düşüş, alkali muamelesi sırasında polisakkaritlerin bozunması ve bunların NaOH çözeltisine difüzyonu ile ilişkili olabilir (Freile-Peigrín & Murano, 2005; Li et al., 2009). Bu farklılıklar, ekstraksiyon özelliklerinin türe özgü olduğu ve ayrıca belirlenmesi gerektiği hipotezini de desteklemektedir(Li et al., 2009).

### 3.1.1.2. Jel Kuvveti:

Tablo 3.1’de verildiği üzere hiç işlem görmemiş *Gracilaria* agarları verimli bir şekilde toza dönüşmediği için jel kuvveti ölçülmemiştir. Sadece çamaşır suyu uygulanan yosunlardan elde edilen agarların jel kuvveti  $133,9\pm 28,5$  g/cm<sup>2</sup> ile  $200,8\pm 52,4$  g/cm<sup>2</sup> arasında değişmiştir. *Gracilaria*’ya uygulanan NaOH muamelesi ile jel kuvvetinin artmıştır. %3NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan örnekte  $1023,8\pm 36$  g/cm<sup>2</sup>’yi bularak ticari agarın jel kuvvetine ( $1336,5\pm 54,6$  g/cm<sup>2</sup>) yaklaştığı görülmüştür. Jel kuvvetleri %6 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan örneklerde  $861,2\pm 168,6$  g/cm<sup>2</sup>, %6NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan örneklerde ise  $848,8\pm 70,7$  g/cm<sup>2</sup> olup, uluslararası agar pazarının kabul ettiği 750 g/cm<sup>2</sup> den ve Tablo 3.2’de verilen *G. Tenuistipitata* (726 g/cm<sup>2</sup>), *G.salicornia* (287g/cm<sup>2</sup>), *G. Corticata* (634g/cm<sup>2</sup>), *G.gracilis* (400g/cm<sup>2</sup>) ve *G.lemaniformis* (271g/cm<sup>2</sup>) türlerinin jel kuvvetlerinden daha fazladır (Armisen, 1995; Yousefi et al., 2013). Japon İşlenmiş Agar Spesifikasyonları (JSPA) tarafından belirlenen jel gücü kriterleri %1.5 konsantrasyonda birinci sınıf gıda agarı için 350 g/cm<sup>2</sup> ve üstün dereceli agar için 600 g/cm<sup>2</sup> olup elde edilen *Gracilaria* agarlarının çoğu bu kriterlere uymaktadır. (Lee et al., 2017)

Buriyo ve Kivaisi'nin (2003, 2007) *Gracilaria salicornia* üzerindeki çalışmaları, düşük jel mukavemetli agar ( $118-251$  g/cm<sup>2</sup> ve  $128-240$  g/cm<sup>2</sup>) elde ettiğini bildirmiştir. Vuai ve Mpatani (2019)’nin yaptığı çalışmada işlem görmemiş *Gracilaria* numunelerinin agarının ortalama jel kuvvetinin  $144.5$  g/cm<sup>2</sup> ila  $159.0$  g/cm<sup>2</sup> arasında değiştiği, alkali ile işlenmiş agarın ortalama değerlerinin ise  $232.3$  g/cm<sup>2</sup> ila  $510.3$  g/cm<sup>2</sup> arasında değiştiği gözlemlenmiştir.

Tablo 3.2 Bazı *Gracilaria* türlerinin verimi, jel kuvveti ve sülfat içeriği

Türler	Kökeni	Agar verimi	Jel kuvveti	Sülfat miktarı	Kaynaklar
<i>G. tenuistipitata</i>	Philippines	16,18	726	0,90	De la Pen~a (1996)
<i>G. salicornia</i>	Philippines	20,07	287	2,42	De la Pen~a (1996)
<i>Gracilaria sp</i>	China	48,7	609	1,65	Lian (1996)
<i>G.lemaniformis</i>	Mexico	29,7	271	2,96	Li et al. (2008)
<i>G. corticata</i>	Iran	3,5	634	2,6	Yousefi et al.(2013)
<i>G. gracilis</i>	Vietnam	36,8	400	-	Skriptsova and Nabivailo (2009)
<i>G. cliftonii</i>	Australian	51,9	246,7	5	Kumar and Fotedar (2009)
<i>G. vermiculophylla</i>	Mexico	17	1332	-	Vergara-Rodarte et al., (2010)

### 3.1.1.3. Jelleşme ve Erime Sıcaklıkları:

Tablo 3.1’de verilen sonuçlara göre hiç işlem görmemiş olan *Gracilaria* agarı verimli bir şekilde toz hale gelmediğinden dolayı erime ve donma sıcaklıkları ölçülmemiştir. Sadece çamaşır suyu uygulanan örneklerde ise jelleşme ve erime sıcaklığı cihaz tarafından ölçülememiştir. Bunun nedeni jel kuvvetinin çok düşük olmasıyla açıklanabilir. Ticari agarın jelleşme ve erime sıcaklığı reolojik ölçüm sonucunda sırasıyla 33,6 °C- 95,4 °C bulunurken, Ticari agarın veri sayfasında jelleşme sıcaklığı 32 - 36 °C ,erime sıcaklığı ise 90 °C olarak bildirilmiştir (Anonim, 2022e). Hem çamaşır suyu hem NaOH uygulanan örneklerde jelleşme sıcaklığı 33,7 °C ile 41,7 °C arasında değişirken erime sıcaklıkları 80,2±6,7 °C ile 95,33±0,1 °C arasında değiştiği gözlenmiştir. 33,75±0,2°C jelleşme sıcaklığı, 95,33±0,1°C erime sıcaklığındaki %0,5 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanmış *Gracilaria* yosunlarından elde edilen agarlar, ticari agara en yakın jelleşme ve erime sıcaklığı değerlerine sahip olduğu görülmüştür. En yüksek verime sahip %3 NaOH+%5 çamaşır suyu muamelesiyle elde edilen agarlar 33,7±8,7 °C jelleşme, 80,2±6,7 °C erime; en yüksek jel gücüne sahip %3 NaOH+%1 çamaşır suyu muamelesiyle elde edilen agarlar ise 39,9±2,4 °C jelleşme, 82,6±3,4 °C erime sıcaklığına sahip oldukları hesaplanmıştır. Kaynaklarda *Gracilaria* agarının jelleşme sıcaklığının 40-42 °C arasında değişirken ve erime sıcaklığının 85 °C veya üzerinde olduğu belirtilmiştir (Guiseley, 1970). González ve arkadaşları (2009) çalışmalarında %5 NaOH alkali muamelesiyle elde edilmiş *Gracilaria* agarlarının jelleşme sıcaklığının 32-35 °C arasında, erime sıcaklığının ise 81-94 °C arasında olduğunu gözlemlemişlerdir. Başka bir çalışmada Arvizu-Higuera ve arkadaşları (2008) doğal *Gracilaria* agarının jelleşme sıcaklığının 21,5-23,3 °C, erime sıcaklığını 60,2-64 °C arasında bulurken, alkali muamelesi uygulanmış *Gracilaria* agarlarının jelleşme sıcaklığını 35,7-39,6 °C, erime sıcaklığını ise 92,4-99,7 °C arasında bulmuşlardır. Freile-Pelegrin ve Murano (2005) yaptıkları çalışmada, *Gracilaria* yosununa uygulanan NaOH konsantrasyonunun artmasıyla elde edilen agarların jelleşme sıcaklığında yükselmeye neden olduğu görülmüştür. Hem çamaşır suyu hem NaOH uygulanan örneklerden elde ettiğimiz *Gracilaria* agarı, literatürdekilerle karşılaştırıldığında benzer jelleşme ve erime sıcaklıklarına sahip olduğu bulunmuştur. Fakat *Gelidium*’dan elde edilen ticari agarın erime sıcaklığı ile, çoğu elde ettiğimiz *Gracilaria* agarının erime sıcaklıkları arasında bariz bir fark olduğu gözlenmiştir.

#### 3.1.1.4. pH

Çalışmada sadece çamaşır suyu kullanılarak üretilen örneklerin agarının pH değeri  $4,56 \pm 0,1$  olduğu gözlenmiştir. NaOH+çamaşır suyu uygulanan örneklerden elde edilen agarların pH'ı en yüksek  $6,34 \pm 0,2$  ile %6 NaOH+%2 çamaşır suyu uygulanan örnekte, en düşük  $4,55 \pm 0,1$  ile %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan örnekte bulunmuştur. En yüksek jel kuvvetine sahip olan %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanarak elde edilen agarın pH'ı  $5,77 \pm 1,1$  değerinde ölçülmüştür. Ticari agarın pH'ı ölçüm sonucunda  $6,98 \pm 0,7$  çıkarken, veri sayfasında 5,0-7 arasında verilmiştir (Anonim, 2022e). Israel ve arkadaşlarının (1999) Gracilaria yosunu üzerine yaptıkları çalışmada agarların pH'ını 6,5-8 arasında bulmuşlardır. İstını ve arkadaşları (1994), çeşitli Gracilaria türleri üzerine yaptıkları çalışmada 70 °C'deki alkali uygulamasıyla elde edilen agarların pH'ını 6,52-6,82, 80 °C'deki alkali uygulamasıyla elde edilen agarların pH'ını 6,52-6,89 aralığında bularak, ekstraksiyon sıcaklığı ile pH'ın değişmediğini gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda ölçtüğümüz ticari agar ve literatürde ölçülen agar pH'ları ile çalışmada Gracilaria'dan üretilen agar örnekleri karşılaştırıldığında sonuçlar benzer çıkmıştır.

#### 3.1.1.5. Ham Kül

Araştırma bulgularına bakıldığında en yüksek ham kül değeri %6 NaOH+%2 çamaşır suyu uygulanan örnekte  $2,55 \pm 0,5$ , en düşük %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan örnekte  $1,05 \pm 0,4$  bulunmuştur. Verimi en yüksek olan %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan örnekte ham kül değeri  $1,75 \pm 0,1$  ölçülmüştür. Elde edilen agarların ham kül değeri, ticari agarın ham kül değerine benzerken ( $2,25 \pm 0,1$ ), dünyadaki bazı önemli kuruluşların (FAO, EEC, USP) kabul ettiği maksimum ham kül miktarından (%6,5) da düşük bulunmuştur (Öğretmen, 2015).

#### 3.1.1.6. Renk Ölçümü

Çalışmamızda elde edilen Gracilaria agarların renk ölçümünün ticari agarla ile karşılaştırılması Tablo 3.3'te verilmiştir. Ticari agarın L\* değeri (parlaklık; 0=siyah, 100=beyaz) 81 olup, diğer tüm agarların L\* değeri bu değerden düşük bulunmuştur. Gracilaria agarları içerisinde en yüksek L\* değeri 75,74 ile %0 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria örneğinde, en düşük ise %3 NaOH+%2 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria örneğinde görülmüştür. Ticari agarın a\* değeri 2,64 olup, a\* değeri en yüksek Gracilaria agarı 5,94 ile %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan

örneklerde, en düşük a\* değeri ( -a\*=yeşil /+a\*= kırmızı) ise 1,3 ile %3 NaOH+%2 çamaşır suyu uygulanan örneklerde görülmüştür. b\* değeri en yüksek 23,2 ile %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan örneklerde, en düşük b\* değeri ise 9,95 ile %3 NaOH+%2 çamaşır suyu uygulanan örneklerde görülmüştür. Genel olarak bakıldığında bütün elde edilen agarlar ticari agar gibi hafif sarıya dönük açık renkte olmakla birlikte, ticari agarın beyaza yakınlığı daha fazladır.

Tablo 3.3 Gracilaria'dan elde edilen agarların renk ölçüm değerleri

NaOH	Ç.s.	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)
%0	%1	75,74	3,53	16,7
%0	%2	72,82	4,48	19,69
%0	%5	69,78	2,52	21,59
%0,5	%5	71,66	3,04	16,06
%1	%5	73,84	5,11	20,94
%3	%5	74,42	5,94	23,2
%6	%5	70,33	4,14	18,05
%12	%5	63,64	2,78	13,94
%3	%1	72,84	4,48	19,79
%6	%1	70,45	3,55	17,72
%3	%2	57,81	1,3	9,95
%6	%2	72,9	2,01	13,15
<b>Ticari agar</b>		81	2,64	17,91

L\*; parlaklık (0=siyah ve 100=beyaz)

a\*:(-a\*)=yeşil / +a\*= kırmızı

b\*:(-b\*)=mavi / (b\*)= sarı

### 3.1.2. Agarın Toz Haline Getirilmesinde Alternatif Teknolojilerin Kullanılması

Agarın kurutulma işlemi temelde, kaynatılan süzütünün oda sıcaklığında jelleşmesinden sonra dondur-çöz-kurut yöntemine dayanmaktadır. Bu şekilde elde edilen kuru örnekler değirmenlerde öğütülerek nihai toz agar elde edilmektedir. Ancak bu uzun sürecin liyofilizatör ve spray-dryer gibi yöntemler ile önemli miktarda kısaltmak mümkün görünmektedir. Bu kapsamda, bir önceki aşamada dondur-kurut yönteminde belirlenen optimum alkali ve ağartma miktarı belirlenen Gracilaria agarının (%3 NaOH+ %1 çamaşır suyu) liyofilizatör ve spray-dryer yöntemleri ile toz haline getirilmesi, ardından kalite parametreleri ile verim yüzdelerinin hem kendi aralarında hem de ticari kontrol ile karşılaştırılmıştır.

Dondur- çöz yöntemiyle belirlenen en iyi alkali ve çamaşır suyu konsantrasyonu %3 NaOH+ %1 çamaşır suyu olması nedeniyle liyofilizatör ve spray-dryer yöntemleri bu orandaki agarlara uygulanmıştır. Jel gücü düşük verimi yüksek agar elde edimiş %3

NaOH+ %5 amaşır suyu konsantrasyonu uygulanan yosunlara da bu alternatif kurutma yöntemleri denenmiş ve sadece gıda alanındaki kullanımları araştırılmıştır. Bu iki konsantrasyonun uygulandığı yosunlara liyofilizatör ve spray-dryer yöntemlerine ek olarak önce dondur-z daha sonra liyofilizatör ve spray-dryer yöntemleri de eklenerek aralarındaki kalite parametreleri karşılaştırılmıştır.



şekil 3.4 -20°C'de 1 gece dondurulup liyofilizatre konulan agar örneklere



şekil 3.5 Liyofilizatörde kurutulmuş agar örneklere



Liyofilizatör



Dondur-çöz liyofilizatör

Şekil 3.6 %3Naoh+%5 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunun liyofilizasyon ile kurutulan agarların toz hali



Liyofilizatör



Dondur-çöz liyofilizatör

Şekil 3.7 %3Naoh+%1 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunun liyofilizasyon ile kurutulan agarların toz hali

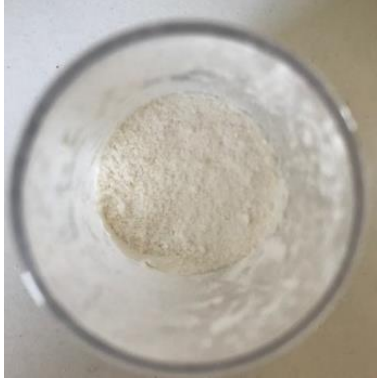


Spray-dryer

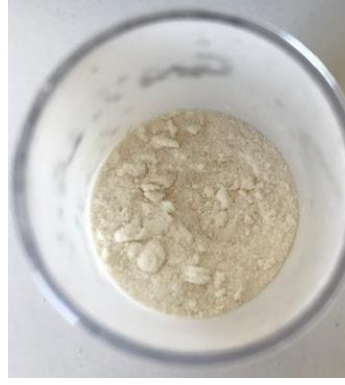


Dondur-çöz spray-dryer

Şekil 3.8 %3 Naoh+%5 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunun spray dryer ile kurutulan agarların toz hali



Spray-dryer



Dondur-çöz spray-dryer

Şekil 3.9 %3Naoh+%1 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunun spray dryer ile kurutulan agarların toz hali

Tablo 3.4 %3 NaOH+ %1 çamaşır suyu konsantrasyonunda uygulanan Gracilaria yosunlarından farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen agarların bazı kalite parametrelerinin ticari agar ile karşılaştırılması

ÖRNEKLER	Verim (%)	Jel kuvveti	Jelleşme sıcaklığı	Erime sıcaklığı	pH	Ham kül
Dondur -çöz	9,46±2,97	1023,8±36	39,9±2,4	82,6±3,4	5,77±1,1	1,05±0,4
Liyofilizatör	12,2±1,5	836,3±172	35,7±3	94,7±5,3	5,38±0,2	2,35±0,2
D.ç.liyofilizatör	8,2±1,5	969,9±92	58,4±2,1	88,6±3,2	6,68±0,5	2±0,3
Spray-dryer	5,2±1,4	711,4±32	35±0,4	96,1±3,4	6,11±0,9	2,55±0,5
D.ç.spray-dryer	4,8±0,45	849±50,8	36,6±1,6	95,96±3,5	8,86±0,6	1,15±0,2
Ticari agar		1336,5±54,6	33,6	95,4	6,98±0,7	2,25±0,1

Tablo 3.4'ten de görüleceği üzere, dondur-çöz yöntemi ile elde edilen jel gücü en yüksek Gracilaria agarının liyofilizatör ve spray-dryer yöntemleri ile kurutulduğunda bazı kalite parametrelerinde önemli değişikliklerin olduğu tespit edilmiştir. Öncelikle Gracilaria agarı veriminin liyofilizatör yönteminde %12'ye yükseldiği görülmüştür. Ancak dondur-çöz liyofilizatör yönteminde verimin %8,2, spray-dryer ve dondur-çöz spray-dryer yöntemiyle elde edilen verimlerin ise sırasıyla %5,2 ve %4.8 ile dondur-çöz yönteminden oldukça aşağı seviyelere düştüğü görülmektedir. Jel kuvveti açısından bakıldığında alternatif kurutma yöntemleri geleneksel dondur-çöz yöntemine göre daha düşük jel gücü göstermişlerdir. Liyofilizatör yöntemi 836,3±172 g/cm<sup>2</sup>, dondur çöz liyofilizatör 969,9±92 g/cm<sup>2</sup>, spray-dryer 711,4±32 g/cm<sup>2</sup> ve dondur çöz spray-dryer 849±50,8 g/cm<sup>2</sup> jel kuvveti göstermişlerdir. Liyofilizatör ve spray-dryer yöntemlerine ek olarak dondur çöz yönteminin uygulanması her iki yöntemde de jel kuvvetinin artmasına neden olmuştur. Agarların jel gücü yüksekten düşüğe dondur-çöz, liyofilizatör ve spray dryer şeklinde sıralanmıştır.

Jelleşme sıcaklığının tüm yöntemlerle elde edilen agarlarda, ticari agara (33,6 °C) göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Jelleşme sıcaklığı, liyofilizatör (35,7±3°C), spray-dryer (35±0,4°C) ve dondur-çöz spray-dryer (36,6±1,6 °C) tekniklerinden elde edilen agarlarda, dondur-çöz yöntemine göre elde edilen agara göre daha az ölçülmüştür. Dondur-çöz liyofilizatör yöntemiyle elde edilen agarın jelleşme sıcaklığı ise 58,4±2,1°C ile dondur çöz yöntemine göre daha yüksek ölçülmüştür. Liyofilizatör, dondur çöz liyofilizatör, spray-dryer ve dondur çöz spray-dryer yöntemlerinden elde edilen agarların erime sıcaklıkları sırasıyla 94,7±5,3, 88,6±3,2, 96,1±3,4 ve 95,96±3,5 °C ölçülmüştür. Alternatif kurutma yöntemleri ile elde edilen agarlar, dondur çöz yönteminden (82,6±3,4 °C) elde edilen agara göre daha yüksek erime sıcaklığı göstermişlerdir. Ticari agara (95,4 °C) en yakın erime sıcaklıkları, liyofilizatör, spray dryer ve dondur çöz spray dryer yöntemlerinde olduğu görülmüştür.

pH ölçümlerinde ticari agara(6,98±0,7) göre dondur-çöz(5,77±1,1), liyofilizatör (5,38±0,2), dondur-çöz liyofilizatör(6,68±0,5) ve spray-dryer (6,11±0,9) yöntemleri daha düşük olduğu görülürken, dondur çöz spray-dryer (8,86±0,6) yöntemiyle elde edilen agarın pH'ı oldukça yüksek ölçülmüştür.

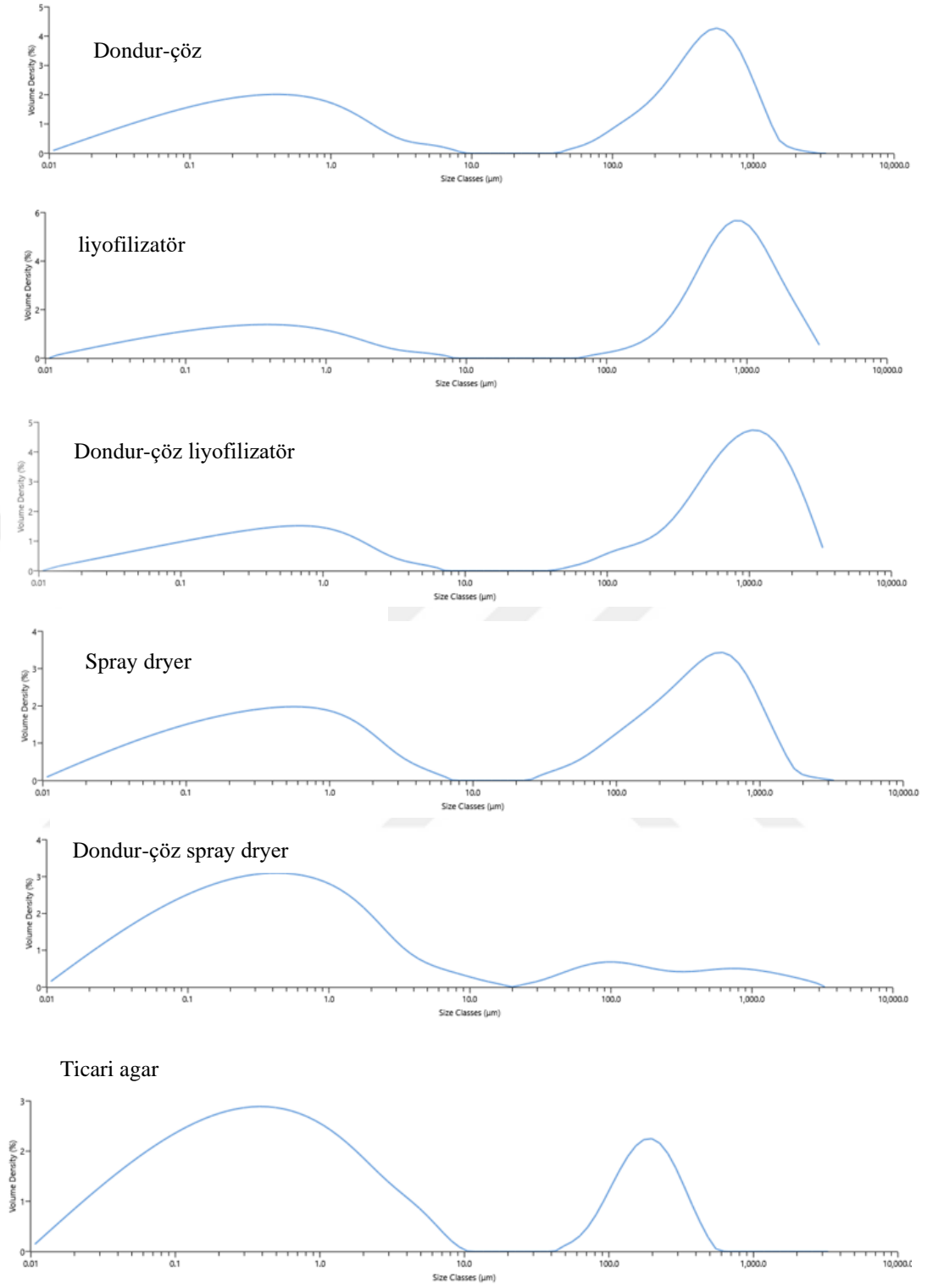
Liyofilizatör, dondur çöz liyofilizatör, spray-dryer ve dondur çöz spray-dryer ham kül değerleri sırasıyla; %2,35±0, %2,2±0,3, %2,55±0,5 ve %1,15±0,2 ölçülmüştür. Liyofilizatör ve spray dryer yöntemlerine ek olarak dondur çöz yönteminin eklenmesiyle her ikisinin de ham kül değerlerinde düşüş görülmüştür. Sadece dondur çöz yöntemiyle elde edilen agarın ham kül değeri ise bütün agarların ham kül değerinden düşük ölçülmüştür. Genel olarak bakıldığında ise elde edilen agarların ham kül değeri, dünyadaki bazı önemli kuruluşların (FAO, EEC, USP) kabul ettiği maksimum ham kül miktarından (%6,5) dan düşük bulunmuştur. (Öğretmen, 2015)

Ticari agar, hafif sarıya dönük açık bir renge sahiptir. Tablo 3.5'de görüldüğü üzere, %3 NaOH+ %1 çamaşır suyu konsantrasyonu uygulanarak elde edilen agarların çoğu bu renge yakın ölçülmüştür. Ticari agarın L\* değeri 81 iken, spray dryer ve dondur çöz spray dryer yöntemi uygulanarak kurutulmuş örneklerin L\* değeri sırasıyla 92,72 ve 93,07 olarak ölçülüp, bu agarların beyaz renge çok yakın olduğu görülmektedir. En düşük L\*, a\* ve b\* değerleri sırasıyla 66,95, -0,38 ve 3,89 ile dondur-çöz liyofilizatör tekniğiyle kurutulmuş örnekte görülmüştür.

Liyofilizatör ve spray-dryer alternatif yöntemleri her ne kadar jelleşme gücünde ve verimde kayıplara sebep olsa da agarın zahmetsiz elde edilmesi ve doğrudan ticarete sunulması gibi kolaylıkları nedeni ile tercih edilebilecek düzeydedir. Özellikle partikül boyut analizleri püskürt-kurut yöntemi ile ilk kaynatmadan sonra elde edilen agarın homojen dağılıma sahip küçük partikül boyutuna sahip olduğu tespit edilmiştir. Şekil 3.10'da görüleceği üzere, ticari agara ait partikül boyutu ortalama 0,02-2 µm ve 100-300 µm arasında bulunurken aynı veriler geleneksel dondur çöz yönteminde 0,1-1,5 µm ve 200-1000 µm arasında, liyofilizatör yönteminde 0,05-1,5 µm ve 100-2000 µm arasında, dondur çöz liyofilizatör yönteminde ise 0,2-1 µm ve 200-3000 µm arasında hesaplanmıştır. Ticari agara en yakın partikül boyutuna sahip olan spray dryer yönteminde partikül boyutları 0,05-2 µm ve 100-1200 µm arasında, dondur çöz spray dryer tekniğinde ise 0,02-2 µm ve 100-1000 µm arasında olduğu görülmüştür. Çeşitli yöntemlerle elde edilen agarların renkleri kıyaslandığında püskürt-kurut yöntemi ile elde edilen agarın beyaz rengine karşılık diğer tüm agarların sarımsı bir renge sahip olduğu belirlenmiştir. Partikül boyutu, homojenite ve renk ticari ürünlerde önemli faktörler olup, bu açıdan püskürt-kurut yönteminin avantajlarını oluşturmaktadır.

Tablo 3.5 %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunundan farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen agarların renk ölçüm değerlerinin ticari agar ile karşılaştırılması

	<b>L*(D65)</b>	<b>a*(D65)</b>	<b>b*(D65)</b>
<b>Dondur -çöz</b>	72,84	4,48	19,79
<b>Liyofilizatör</b>	69,42	1,45	12,06
<b>D.ç.liyofilizatör</b>	66,95	-0,38	3,89
<b>Spray-dryer</b>	92,72	0,48	9,45
<b>D.ç.spray-dryer</b>	93,07	0,58	7,88
<b>Ticari agar</b>	81	2,64	17,91



Şekil 3.10 %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunundan farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen agarların partikül boyutu ölçümü ve ticari agar ile karşılaştırılması

### 3.1.3. Kırmızı Yosunlardan Elde Edilen Agarın Gıda ve Biyoteknolojik Kullanımının Test Edilmesi

#### 3.1.3.1. Gıda Alanında Kullanımının Test Edilmesi

Agar gıdalarda katılaştırıcı ajan olarak kullanılan ve birçok sektörde tercih edilen bir üründür. Gıda agarı olarak genelde jel gücü düşük *Gracilaria* kökenli agar tercih edilmektedir. Bu nedenle Marmara bölgesinden toplanan ve çeşitli optimizasyon aşamalarından geçen jel gücü düşük ve yüksek iki *Gracilaria* agarının gıda alanında kullanım potansiyeli araştırılmıştır.

Tablo 3.6’da görüldüğü üzere %3 NaOH+ %5 çamaşır suyu uygulanarak elde edilen *Gracilaria* agarı veriminin liyofilizatör yönteminde % 22,99±5,8’ye yükseldiği görülmüştür. Dondur-çöz liyofilizatör, spray-dryer, dondur-çöz spray-dryer yöntemleriyle elde edilen agarların verimleri ise sırasıyla %19,5±2,2, %6,09±1,4 ve %3,3±0,8 bulunmuştur. Jel kuvveti açısından bakıldığında dondur-çöz spray dryer yöntemi ile elde edilen agar (777,8±34,9 g/cm<sup>2</sup>) diğer yöntemlerden oldukça yüksek jel kuvveti göstermiştir. Liyofilizatör yöntemi 329,6±177,5 g/cm<sup>2</sup>, dondur çöz liyofilizatör 239,8±98,7 g/cm<sup>2</sup>, spray-dryer 344,2±30,3 g/cm<sup>2</sup> jel kuvveti göstermişlerdir.

Jelleşme sıcaklığının tüm yöntemlerle elde edilen agarlarda, ticari agara (33,6 °C) göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Jelleşme sıcaklıkları, liyofilizatör (38,96±3,2°C), dondur-çöz liyofilizatör (41,03±3,2°C), spray-dryer (34,3±1,2°C) ve dondur-çöz spray-dryer (42,32±4,6 °C) bulunmuştur. Liyofilizatör, dondur çöz liyofilizatör, spray-dryer ve dondur çöz spray-dryer yöntemlerinden elde edilen agarların erime sıcaklıkları sırasıyla 86,6±1,8, 81,6±1,6, 90,6±1,2 ve 89±0,5 °C ölçülmüştür.

Ticari agarın pH değeri (6,98±0,7); dondur-çöz(4,55±0,1), liyofilizatör (5,69±0,8), dondur-çöz liyofilizatör(5,45±0,7) ve spray-dryer (6,15±1), dondur çöz spray-dryer (6,62±0,7) yöntemiyle elde edilen agarların pH’ından yüksek ölçülmüştür.

Liyofilizatör, dondur çöz liyofilizatör, spray-dryer ve dondur çöz spray-dryer ham kül değerleri sırasıyla; %3,45±0,4 % 1,8±0,3, %3,7±0,3 ve %2,4±0,1 ölçülmüştür. Liyofilizatör ve spray dryer yöntemlerine ek olarak dondur çöz yönteminin eklenmesiyle her ikisinin de ham kül değerlerinde düşüş görülmüştür.

Katılaştırıcı ajanların gıda endüstrisinde kullanımı için sahip olması gereken parametreler arasında tekstür gibi analizler de bulunmaktadır. Sertlik, yapışma, yaylanma, bağlanma, sakızlık, çiğneme, dayanma ve akışkanlık gibi parametrelerin ticari kontrole göre kıyaslandığında bazı kurutma yöntemleriyle elde edilen *Gracilaria* agarının ticari kontrole göre oldukça başarılı sonuçlar ortaya koyduğu görülmüştür. Tablo 3.7’de de görüleceği üzere sadece sertlik verisi ticari kontrolde ( $3204 \pm 129$ ) diğer tüm *Gracilaria* agarlarına göre yüksek bulunmuştur. Ancak %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan dondur-çöz yöntemi ( $2764 \pm 597$ ) ve dondur-çöz püskürt kurut ( $2569,5 \pm 215$ ) yöntemi ile elde edilen *Gracilaria* agarın sertlik verisinin ticari agara yakın sonuç gösterdiği tespit edilmiştir. Liyofilizatör ( $1471,4 \pm 84$ ) ve püskürt kurut ( $997,4 \pm 44$ ) yöntemlerine ek olarak dondur çöz yönteminin eklenmesi her iki alternatif yöntemde de (sırasıyla  $2051,1 \pm 316$  ve  $2569,5 \pm 215$ ) sertliğin yükselmesine sebep olmuştur. Tekstür analiz sonuçları, tüm kurutma teknikleri ile elde edilmiş *Gracilaria* agarının ticari ağara göre yapışkanlığının düşük, bağlılık, yaylanma, dayanma verilerinin bir miktar yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Yapışma, yaylanma, bağlılık ve çiğneme verilerinin kurutma teknolojisi ile değişmemesine karşın, sakızlık ve çiğneme verilerinin klasik dondur çöz yönteminde ticari agara ve diğer kurutma yöntemlerine göre arttığı görülmüştür.

%3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan *Gracilaria* yosunlarının dondur çöz spray dryer yöntemi ile elde edilen agarı ( $2202,5 \pm 115$ ) da yüksek sertlik göstermiştir. Bu konsantrasyondaki yosunlara liyofilizatör ( $762,9 \pm 83$ ) ve spray dryer ( $1911,4 \pm 190$ ) yöntemlerine ek olarak dondur çöz yönteminin eklenmesi de (sırasıyla  $1742 \pm 189$  ve  $2202,5 \pm 115$ ) sertliğin artmasına neden olmuştur. Tüm alternatif kurutma yöntemleriyle elde edilen agarların yapışma, sakızlık ve çiğneme verilerinin ticari agar ile karşılaştırıldığında düşük olduğu görülürken, bağlanma ve dayanmanın bir miktar yüksek olduğu görülmüştür. Viskozitede ise diğer tüm kurutma yöntemlerinden elde edilen agarlarda ticari agara göre önemli bir düşüş olduğu gözükmemektedir (Tablo 3.9). Praiboon (2006)’un bazı *Gracilaria* türleri üzerinde yaptığı çalışmada *G. Fisheri*’nin alkali işleme tabi tutulmayan yosunlarından elde edilen agarların viskozitesi  $18.37 \pm 0.55$  iken alkali uygulanmış yosunlarınkı  $4.34 \pm 0.27$ , *G. Edulis*’in alkali işleme tabi tutulmayan yosunlarından elde edilen agarların viskozitesi  $22.05 \pm 2.76$  iken alkali uygulanmış yosunlarınkı  $8.59 \pm 0.37$ , *Gracilaria sp*’nin alkali işleme tabi tutulmayan yosunlarından elde edilen agarların viskozitesi ise  $57.33 \pm 3.51$  iken alkali uygulanmış

yosunlarınki  $5.28 \pm 0.23$  bulunmuştur. Yani bu çalışmada olduğu gibi Praiboon (2006)'un çalışmasında da Gracilaria yosununa alkali işleminin uygulanması agarların viskozitesinde önemli bir düşüğe neden olmuştur.

Tablo 3.6 %3 NaOH+ %5 çamaşır suyu konsantrasyonunda uygulanan Gracilaria yosunlarından farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen agarların bazı kalite parametrelerinin ticari agar ile karşılaştırılması

ÖRNEKLER	Verim (%)	Jel kuvveti	Jelleşme sıcaklığı	Erieme sıcaklığı	pH	Ham kül
<b>Dondur -çöz</b>	19,2±3	376,7±163,3	33,7±8,7	80,2±6,7	4,55±0,1	1,75±0,1
<b>Liyofilizatör</b>	22,99±5,8	329,6±177,5	38,96±3,2	86,6±1,8	5,69±0,8	3,45±0,4
<b>d.ç.liyofilizatör</b>	19,5±2,2	239,8±98,7	41,03±3,2	81,6±1,6	5,45±0,7	1,8±0,3
<b>Spray-dryer</b>	6,09±1,4	344,2±30,3	34,3±1,2	90,6±1,2	6,15±1	3,7±0,3
<b>Dç.spray-dryer</b>	3,3±0,8	777,8±34,9	42,32±4,6	89±0,5	6,62±0,7	2,4±0,1
<b>Ticari agar</b>		1336,5±54,6	33,6	95,4	6,98±0,7	2,25±0,1

Tablo 3.7 Farklı konsantrasyon ve kurutma yöntemleriyle elde edilen Gracilaria agarlarının sertlik, yapışma, yaylanma ve bağlanma değerlerinin ticari agar ile karşılaştırılması

Örnek adı	Sertlik	Yapışma	Yaylanma	Bağlanma
<b>%3NaOH+%5 çamaşır suyu</b>				
Dondur-çöz	1206±78	-161,3±6	0,9±0,08	0,9±0,04
Liyofilizatör	762,9±83	-186,8±19	0,6±0,01	0,9±0,1
D.ç.liyofilizatör	1742±189	-205±8	0,8±0,03	0,8±0,04
Spray-dryer	1911,4±190	-184,9±12	0,8±0,02	0,85±0,01
Dç.spray-dryer	2202,5±115	-164,4±10	0,7±0,05	0,8±0,04
<b>%3NaOH+%1 çamaşır suyu</b>				
Dondur -çöz	2764,5±597	-187,7±2,5	0,87±0,01	0,9±0,04
Liyofilizatör	1471,4±84	-184,0±13	0,8±0,05	0,9±0,02
D.ç.liyofilizatör	2051,1±316	-139,7±3	0,84±0,05	0,9±0,1
Spray-dryer	997,4±44	-157,9±11	0,8±0,03	0,9±0,004
D.ç.spray-dryer	2569,5±215	-184,4±7	0,8±0,05	0,8±0,02
<b>Ticari agar</b>	3204,6±30	-120,7±11	0,7±0,19	0,7±0,06

Tablo 3.8 Farklı konsantrasyon ve kurutma yöntemleriyle elde edilen *Gracilaria* agarlarının sakızlık, çiğneme ve dayanma değerlerinin ticari agar ile karşılaştırılması

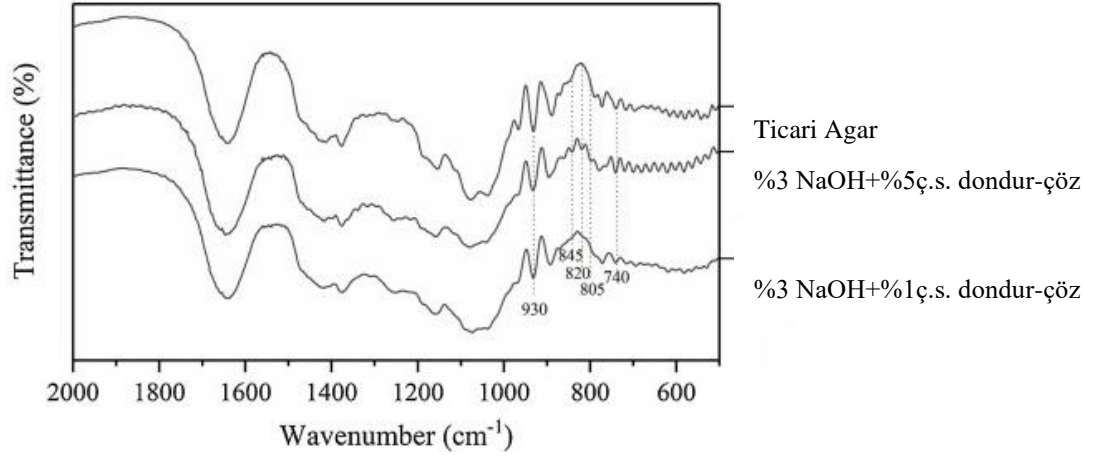
Örnek adı	Sakızlık	Çiğneme	Dayanma
<b>%3NaOH+%5 çamaşır suyu</b>			
Dondur-çöz	1059±19	941±71	0,7±0,01
Liyofilizatör	647±21	406±4	0,7±0,2
D.ç.liyofilizatör	1432,8±229	1189,7±238	0,7±0,06
Spray-dryer	1621±143	1367±160	0,7±0,01
D.ç.spray-dryer	1851±126	1450±135	0,65±0,02
<b>%3NaOH+%1 çamaşır suyu</b>			
Dondur -çöz	2437,5±536	2120±488	0,76±0,02
Liyofilizatör	1281±109	1061±156	0,74±0,03
D.ç.liyofilizatör	1836±533	953±124	0,68±0,04
Spray-dryer	913±36	775±61	0,76±0,01
D.ç.spray-dryer	1931±110	1530±185	0,61±0,02
<b>Ticari agar</b>	2162,3±264	1572±602	0,5±0,07

Tablo 3.9 Farklı konsantrasyon ve kurutma yöntemleriyle elde edilen *Gracilaria* agarlarının viskozitelerinin ticari agar ile karşılaştırılması

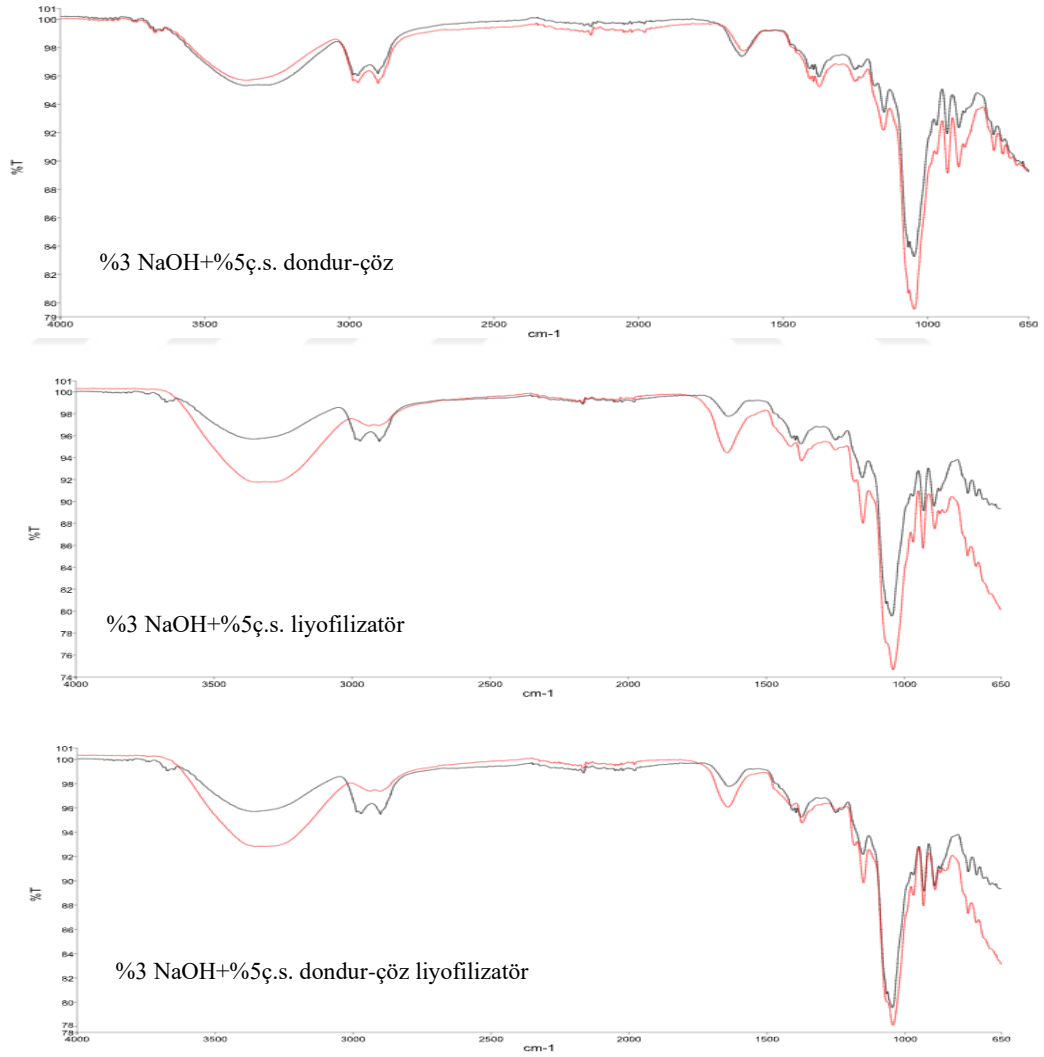
Uygulanan konsantrasyon	Dondur -çöz	liyofilizatör	D.ç. liyofilizatör	Spray-dryer	D.ç.spray-dryer	Ticari agar
%3NaOH+%5ç.s.	3±0,3	5,6±1	27,1±2,09	24,6±6,6	11,8±5	33,5±1,4
%3NaOH+%1ç.s.	2,6±1,3	4,3±0,5	3,4±0,3	9,5±0,4	10,6±1,2	33,5±1,4

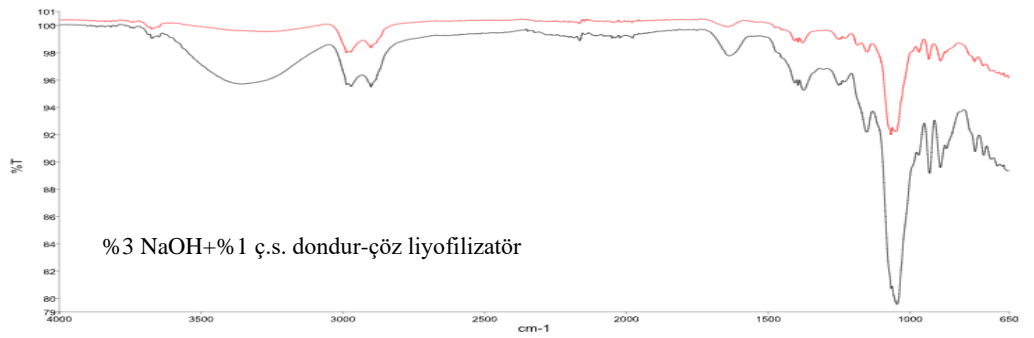
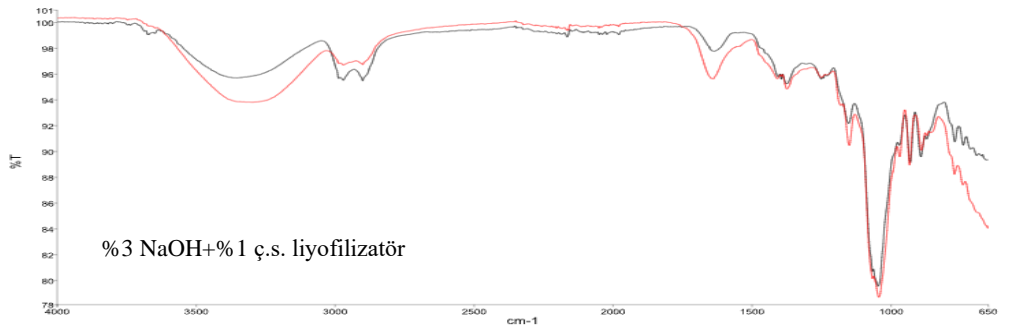
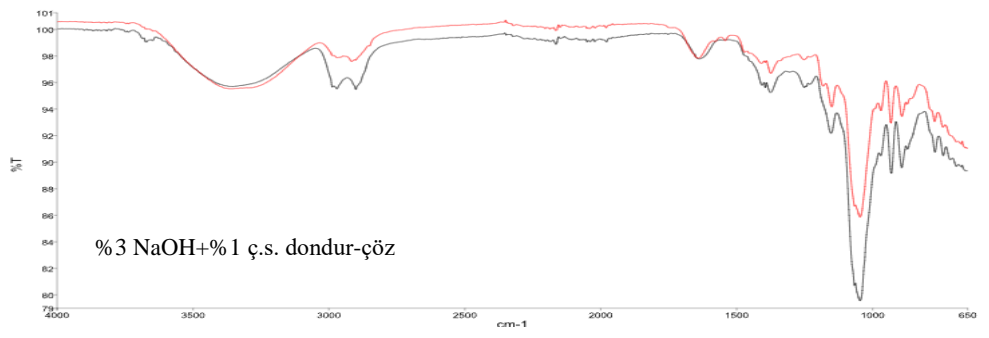
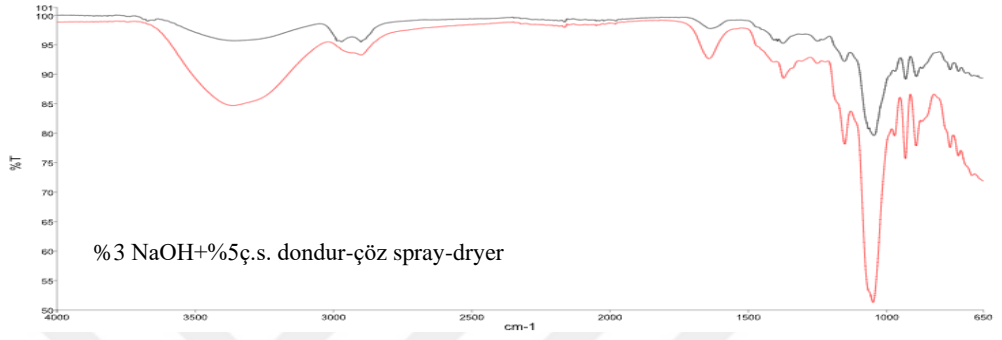
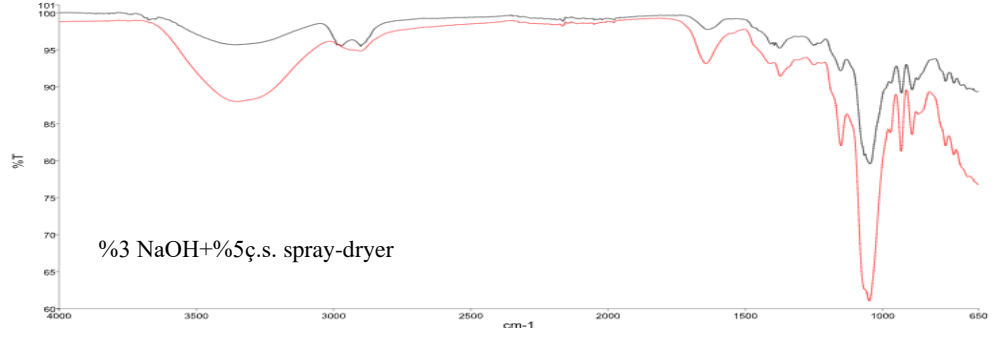
### 3.1.3.2. Agarda Sülfat Miktarının Tayini

Agar örneklerinin sülfat içerikleri jel gücü ile yakından ilgili olup, agar parametreleri için önemli bir göstergedir. %3 NaOH+%5 çamaşır suyu ve %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan *Gracilaria* yosunlarından farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen agarların sülfat içerikleri FTIR yardımıyla ölçülerek aynı veri ticari agar (MERCK) ile karşılaştırılmıştır. Farklı kombinasyonlar ile ekstrakte edilen agarların FT-IR spektrumları ( $4000\text{ cm}^{-1}$  ila  $650\text{ cm}^{-1}$ ) ticari agar ile karşılaştırmalı olarak Şekil 3.11’de gösterilmiştir. Tüm agarlar, sülfatlanmış polisakkaritin tipik karakteristik piklerini sergilemiştir. Grafikte sergilenen yaklaşık  $805$ ,  $820$  ve  $845\text{ cm}^{-1}$ deki bantlar, sırasıyla 3-6 anhidro L-galaktozun C-2’sindeki, L-galaktoz ünitelerinin C-6’sındaki, D-galaktoz ünitelerinin C-4’ündeki sülfatın titreşimlerine bağlanmıştır (Chen et al., 2020). Ticari agar ile *Gracilaria* agarlarının karşılaştırmalı sülfat piklerine bakıldığında; *Gracilaria* agarlarının da ticari agar kadar başarılı performans ortaya koyabileceğini göstermektedir.



Şekil 3.11 Ticari agar ve Gracilaria agarlarının önemli dalga boylarında gösterdiği sülfat titreşimleri







Şekil 3.12 Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen Gracilaria agarlarının sülfat içeriklerinin FT-IR ile belirlenip ticari agar ile karşılaştırılması (-: ticari agar; -: Gracilaria agarları)

### 3.1.3.3. Agarda Ağır Metal Analizi

Tablo 3.10'da da verildiği gibi çalışmamızda ticari agarın krom miktarı  $0,5 \pm 0,02$  ppb olarak bulunurken; %3NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından dondur-çöz, liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer, dondur-çöz spray dryer yöntemleriyle elde edilen agarların krom miktarları sırasıyla  $3,86 \pm 0,3$  ppb,  $9,3 \pm 0,08$  ppb,  $1,441 \pm 0,1$  ppb,  $1,398 \pm 0,1$  ppb,  $1,051 \pm 0$  ppb bulunmuştur. %3NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından dondur-çöz, liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer, dondur-çöz spray dryer yöntemleriyle elde edilen agarların krom miktarları ise sırasıyla  $6,8 \pm 0,6$  ppb,  $4,2 \pm 0,1$  ppb,  $1,2 \pm 0,06$  ppb,  $0,7 \pm 0,01$  ppb,  $1,4 \pm 0,2$  ppb bulunmuştur. Scholten ve Pierik (1998) bazı ticari agarların içerdiği krom miktarlarını 8-25 ppb olarak belirlemişlerdir.

Ticari agarın arsenik miktarı  $0,2 \pm 0,05$  ppb olarak bulunurken; %3NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından dondur-çöz, liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer, dondur-çöz spray dryer yöntemleriyle elde edilen agarların arsenik miktarları sırasıyla  $0,67 \pm 0,09$  ppb,  $2,1 \pm 0,2$  ppb,  $0,649 \pm 0,2$  ppb,  $0,75 \pm 0,015$  ppb,  $0,165 \pm 0,03$  ppb bulunmuştur. %3NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından dondur-çöz, liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray

dryer, dondur-çöz spray dryer yöntemleriyle elde edilen agarların krom miktarları ise sırasıyla  $0,02\pm 0,1$  ppb,  $0,5\pm 0,2$  ppb,  $0,6\pm 0,04$  ppb,  $0,0\pm 0,1$  ppb,  $0,0\pm 0,3$  ppb bulunmuştur. FCC, USP, EEC ve FAO dahil bazı uluslararası kuruluşlar, agar agarın arsenik miktarının 3 ppm (3000 ppb)'den fazla olmaması gerektiğini bildirmişlerdir (Öğretmen, 2015).

Ticari agarın kadmiyum miktarı  $0,008\pm 0,002$  ppb olarak bulunurken; %3NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından dondur-çöz, liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer, dondur-çöz spray dryer yöntemleriyle elde edilen agarların kadmiyum miktarları sırasıyla  $0,021\pm 0,002$  ppb,  $0,002\pm 0$  ppb,  $0,017\pm 0,001$  ppb,  $0,002\pm 0,001$  ppb,  $0,002\pm 0,001$  ppb bulunmuştur. %3NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından dondur-çöz, liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer, dondur-çöz spray dryer yöntemleriyle elde edilen agarların kadmiyum miktarları ise sırasıyla  $0,003\pm 0$  ppb,  $0,014\pm 0,004$  ppb,  $0,026\pm 0,009$  ppb,  $0,016\pm 0$  ppb,  $0,018\pm 0,002$  ppb bulunmuştur. Scholten ve Pierik (1998) bazı ticari agarların içerdiği kadmiyum miktarlarını 8-69 ppb olarak belirlemişlerdir.

Ticari agarın civa miktarı  $0,048\pm 0,1$  ppb olarak bulunurken; %3NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından dondur-çöz, liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer, dondur-çöz spray dryer yöntemleriyle elde edilen agarların civa miktarları sırasıyla  $0,063\pm 0,002$  ppb,  $0,09\pm 0,004$  ppb,  $0,053\pm 0,005$  ppb,  $0,033\pm 0,005$  ppb,  $0,004\pm 0$  ppb bulunmuştur. %3NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından dondur-çöz, liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer, dondur-çöz spray dryer yöntemleriyle elde edilen agarların kadmiyum miktarları ise sırasıyla  $0,013\pm 0$  ppb,  $0,048\pm 0,002$  ppb,  $0,084\pm 0,01$  ppb,  $0,019\pm 0,004$  ppb,  $0,009\pm 0,004$  ppb bulunmuştur. Avrupa Birliği Komisyonu Parlamentosu, piyasada satılan agar agarın civa miktarını maksimum 1 ppm(1000 ppb) olması gerektiğini bildirmiştir (Öğretmen, 2015).

Ticari agarın kurşun miktarı  $0,02\pm 0$  ppb olarak bulunurken; %3NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından dondur-çöz, liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer, dondur-çöz spray dryer yöntemleriyle elde edilen agarların kurşun miktarları sırasıyla  $2,8\pm 0,17$  ppb,  $4,46\pm 0,7$  ppb,  $1,362\pm 0,2$  ppb,  $0,681\pm 0,17$  ppb,  $0,211\pm 0,03$  ppb bulunmuştur. %3NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından dondur-çöz, liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray

dryer, dondur-çöz spray dryer yöntemleriyle elde edilen agarların kurşun miktarları ise sırasıyla 0,96±0,2 ppb, 0,35±0,03 ppb, 0,7±0,27 ppb, 0,38±0 ppb, 0,6±0,07 ppb bulunmuştur. FCC, USP ve FAO agarın içermesi gereken maksimum kurşun miktarını 10 ppm (10.000ppb) olarak belirlemişlerken, Avrupa Birliği Parlamentosu Komisyonu ve Codex Alimentarius Parlamentosu maksimum kurşun miktarını 5 ppm(5000 ppb) olarak belirlemişlerdir (Öğretmen, 2015).

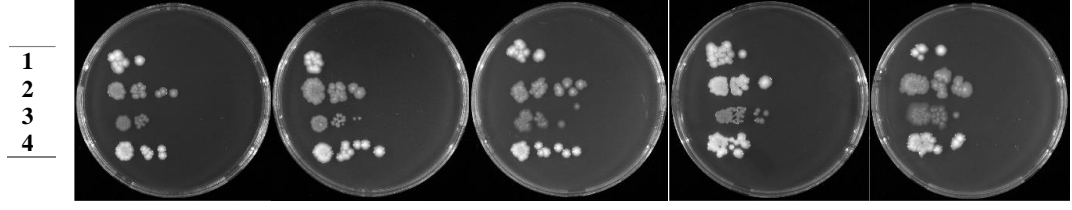
Çalışmada *Gracilaria*'dan elde edilen agarların ağır metal oranları hem ticari agar hem de literatürdeki agarların ağır metal miktarları ile karşılaştırıldığında hepsi kabul edilebilir düzeyde kalmıştır.

Tablo 3.10 Farklı konsantrasyonlarla elde edilen *Gracilaria* agarlarının ağır metal analizleri ve ticari agar ile karşılaştırılması

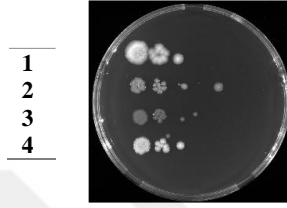
Örnek adı	52Cr(ppb)	75As(ppb)	111Cd(ppb)	202Hg(ppb)	208Pb(ppb)
<b>%3NaOH+%5ç.s.</b>					
<b>Dondur -çöz</b>	3,86±0,3	0,67±0,09	0,021±0,002	0,063±0,002	2,8±0,17
<b>Liyofilizatör</b>	9,3±0,08	2,1±0,2	0,002±0	0,09±0,004	4,46±0,7
<b>D.ç.liyofilizatör</b>	1,441±0,1	0,649±0,2	0,017±0,001	0,053±0,005	1,362±0,2
<b>Spray-dryer</b>	1,398±0,1	0,75±0,015	0,002±0,001	0,033±0,005	0,681±0,17
<b>Dç.çsray-dryer</b>	1,051±0	0,165±0,03	0,002±0,001	0,004±0	0,211±0,03
<b>%3NaOH+%1ç.s.</b>					
<b>Dondur -çöz</b>	6,8±0,6	0,02±0,1	0,003±0	0,013±0	0,96±0,2
<b>Liyofilizatör</b>	4,2±0,1	0,5±0,2	0,014±0,004	0,048±0,002	0,35±0,03
<b>D.ç.liyofilizatör</b>	1,2±0,06	0,6±0,04	0,026±0,009	0,084±0,01	0,7±0,27
<b>Spray-dryer</b>	0,7±0,01	0,0±0,1	0,016±0	0,019±0,004	0,38±0
<b>Dç.spray-dryer</b>	1,4±0,2	0,0±0,3	0,018±0,002	0,009±0,004	0,6±0,07
<b>Ticari agar</b>	0,5±0,02	0,2±0,05	0,008±0,002	0,048±0,1	0,02±0

#### 3.1.3.4. Mikrobiyolojik Kullanımının Test Edilmesi

*Gracilaria* %3NaOH+ %1 çamaşır suyu uygulanan yosunların 5 farklı yöntemle kurutularak elde edilen agarlarla hazırlanan besiyerlerine 1; *Bacillus megaterium* 2; *E. coli* 3; *Pseudomonas putida* 4; *Staphylococcus aureus* yukarıdan aşağıya doğru sırasıyla ekilmiştir. Bu mikroorganizmaların gelişimi hem kendi aralarında hem de *Gelidium*'dan elde edilen ticari agar ile karşılaştırılmıştır. Şekil 3.13, 3.14 ve Tablo 3.11'de görüldüğü gibi sırasıyla dondur-çöz, liyofilizatör, dondur çöz liyofilizatör, spray dryer ve dondur çöz spray dryer ile kurutularak elde edilen agarlarla hazırlanan besiyerlerindeki mikrobiyal büyümenin ticari agarla hazırlanan petrilerdeki koloni çapları ve şekilleri oldukça benzer şekildedir. Dolayısıyla *Gracilaria*'dan elde edilen agarlar, bakteriyel büyüme üzerinde genel inhibitör etki göstermemektedir. Ayrıca kurutma yöntemleri arasında bariz bir fark bulunmamaktadır.



Şekil 3.13 %3NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından farklı kurutulma yöntemlerin elde edilen agarların mikrobiyolojik olarak karşılaştırılması (sırasıyla dondurçöz, liyofilizatör, dondur çöz liyofilizatör, spray dryer, dondur çöz spray dryer)



Şekil 3.14 Ticari agarda büyütülmüş mikroorganizmaların görüntüsü

Tablo 3.11 %3NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından farklı kurutulma yöntemlerin elde edilen agarların koloni çap büyüklüklerinin karşılaştırılması

Örnek adı	Dondur -çöz	Liyofilizatör	D.ç. liyofilizatör	Spray dryer	D.ç. spray dryer	Ticari agar
1	0,23±0,06	0,25±0,07	0,3±0,0	0,2±0,0	0,25±0,07	0,23±0,06
2	0,2±0,0	0,27±0,05	0,25±0,07	0,25,07	0,3±0,0	0,27±0,05
3	0,25±0,07	0,3±0,0	0,2±0,0	0,25,07	0,23±0,06	0,3±0,0
4	0,3±0,0	0,3±0,0	0,23±0,06	0,2±0,0	0,23±0,06	0,2±0,0

### 3.1.3.5. Bitki Doku Kültürü Kullanımının Test Edilmesi

Tablo 3.12’de %3NaOH+1% çamaşır suyu uygulanan yosunların farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen agarlarından yapılan bitki doku kültüründe büyütülen tütün tohumlarının 60. gündeki ağırlık ve yaprak sayısı karşılaştırılması verilmiştir. Tohumların büyümelerinde hiçbir inhibisyon etki görülmemekle birlikte tablodaki değerler oldukça değişken sonuçlar göstermiştir. Bunun nedeni; bitki doku kültürüne tütün tohumunun ekimi sırasında her bir magentaya eşit sayıda tütün tohumlarının ekilememesidir. Tütün tohumları oldukça küçük ve yapışkan olduğu için miktarı ayarlanamamıştır.

Tablo 3.12 Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen *Gracilaria* agarlarından yapılan bitki doku kültüründe büyütülen tütün tohumlarının 60. gündeki ağırlık ve yaprak sayısı karşılaştırılması

Örnek adı	Dondur-çöz	Liyofilizatör	D.ç. liyofilizatör	Spray dryer	D.ç. spray dryer	Ticari agar
Ağırlık	1,4±0,7	1,7±0,8	5,6±2,1	1,75±1,2	0,6±1,4	3±1,1
Yaprak sayısı	32±28	54±15	74±9	71±11	40±32	54±21



Şekil 3.15 Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen *Gracilaria* agarlarının bitki doku kültürü uygulaması (sırasıyla dondur çöz, liyofilizatör, dondur çöz liyofilizatör, spray dryer, dondur çöz spray dryer)

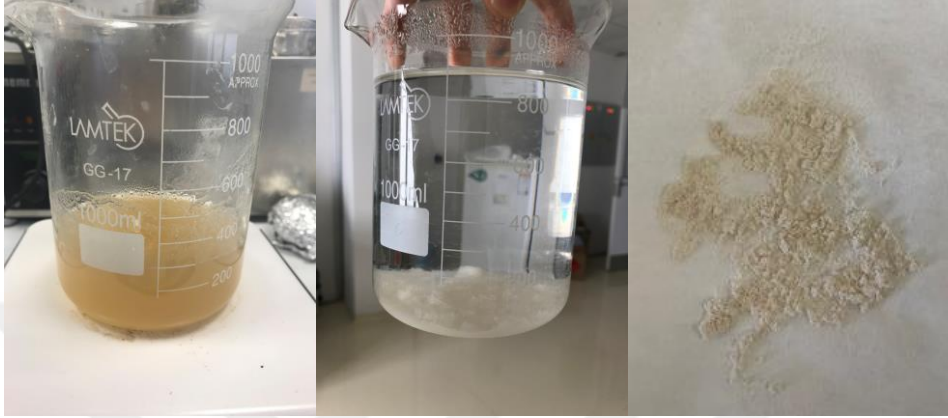


Şekil 3.16 Ticari agarın bitki doku kültürü uygulaması

### 3.1.3.6. Agaroz İzolasyonu ve Biyoteknolojik Kullanımı

Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen agarozlarda en yüksek verim dondur-çöz spray dryer (%84,4) yönteminde görülmüştür. Klasik dondur çöz yönteminde ise %74,05 oranında verim alınırken, liyofilizatör, dondur çöz liyofilizatör, spray dryer yöntemleri ile elde edilen agardan agaroz verimi sırasıyla %63,95, %66,5 ve %65 olmuştur. Provenche (1991), kullandığı metotta agaroz verimini %21 olarak bulurken, benzer bir agaroz üretim metodunun agaroz verimi %30-%45 arasında değiştiği bulunmuştur (Anonim, 2022f). Bu çalışmadaki *Gracilaria*'dan farklı kurutma

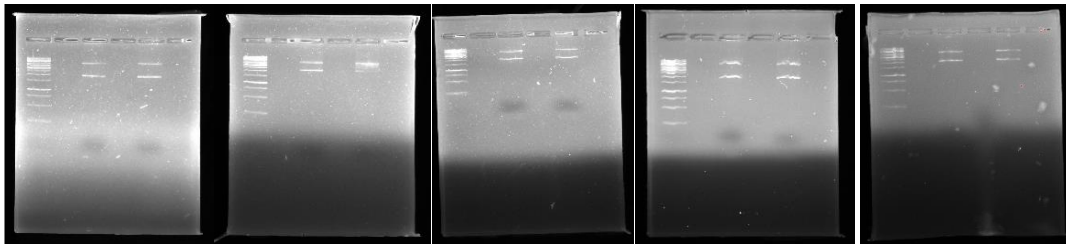
yöntemleriyle elde edilen agarozların jel elektroforezi görüntüsü ticari agarozla karşılaştırıldığında jellerde bir miktar safsızlıklar görülmesine rağmen ladder ve PZR ürünün bantlarının düzgünce ayrıldığı görülmektedir. Özellikle görüntünün temizliği ve ticari kontrol ile aynı yürüme mesafesi açısından spray-dryer yöntemi ile elde edilen agarın agaroz üretimi için oldukça elverişli olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 3.17 Agaroz üretim aşamaları

Tablo 3.13 Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen *Gracilaria* agarlarından agaroz eldesi verimi

Kullanılan ham madde	Dondur-çöz	lyofilizatör	Dondur-çöz liyofilizatör	Spray dryer	Dondur-çöz Spray dryer
Kullanılan agar miktarı	10	10	10	10	10
Elde edilen agaroz	7,405	6,395	6,65	6,5	8,44
Verim (%)	74,05	63,95	66,5	65	84,4



Şekil 3.18 Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen *Gracilaria* agarlarından elde edilen agarozun jel elektroforezi uygulaması (sırasıyla dondur-çöz, liyofilizatör, dondur çöz liyofilizatör, spray dryer, dondur çöz spray dryer)



Şekil 3.19 Ticari agarozun jel elektroforezi görüntüsü



#### 4. SONUÇ

Çalışmamızda Marmara denizine kıyısı bulunan İzmit, İstanbul ve Yalova sahillerinden toplanan Gracilaria cinsi kırmızı deniz yosunları kullanılmıştır. Toplanan Gracilaria cinsi deniz yosunlarından öncelikle klasik dondur çöz yöntemi ile çeşitli alkali ve çamaşır suyu konsantrasyonları uygulanarak agar elde edilmiş, elde edilen agarlar hem kendi arasında hem de Gelidium'dan elde edilen ticari agar ile karşılaştırılmıştır. Karşılaştırılma sonucunda ise ticari agara en yakın kalitedeki agar belirlenmiş, bu agarın elde edildiği alkali ve çamaşır suyu konsantrasyonu uygulanmış Gracilaria yosunlarına liyofilizatör ile kurutma ve spray dryer ile kurutma yöntemleri uygulanarak farklı çeşitlerde agarlar elde edilmiştir. Elde edilen agarlar da hem kendi aralarında hem geleneksel dondur-çöz yönteminden elde edilen agar ile hem de Gelidium'dan elde edilen ticari agar ile karşılaştırılmış ve bu farklı kurutma yöntemlerinin kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Agarın ticari değerini belirleyen en önemli kalite parametreleri; agarın jel gücü, agarın verimi ve agarın jelleşme sıcaklığıdır. Bu parametrelere dayanarak Gelidium'dan elde edilen ticari agara yakın, en kaliteli agar üretimi %3NaOH+%1çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından elde edilmiştir ve bu konsantrasyonda hazırlanan yosunlara sırasıyla liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer ve dondur-çöz spray dryer kurutma yöntemleri uygulanmış, gıda ve biyoteknoloji alanındaki kullanımları araştırılmıştır. En yüksek verime sahip %3NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından elde edilen agarların jel gücünün düşük olması nedeniyle de bu kurutma işlemleri bu yosunlara da uygulanmış, fakat elde edilen agarların sadece gıda alanındaki kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Gracilaria'dan dondur-çöz yöntemiyle elde edilen agarların verimi %5,69±2,6 ile %26,266±3,16 arasında değişmekte olup, sadece çamaşır suyu uygulanan örneklerde çamaşır suyu konsantrasyonu arttıkça verimin arttığı görülmüştür. Alkali uygulamasının ise genel olarak verimde bir düşüğe neden olduğu görülmesine rağmen alkali konsantrasyonu ve verim arasında bir ilişki kurulamamıştır. Alkali uygulamasının verimde düşüğe neden olması, deniz yosunun içerisindeki agar, alkali muamelesi sırasında çözünebileceğinden elde edilen agar veriminde önemli kayıplar olabileceği nedeniyle olabilir. (Mchugh 2003) Alkali uygulanmış yosunlar içerisinde en yüksek verime sahip agar %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria

yosunlarından elde edilmiş olup (%19,23±3), bu yosunlara sırasıyla liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer ve dondur-çöz spray dryer uygulanarak elde edilen agarların verimi sırasıyla; 22,99±5,8, 19,5±2,2, 6,09±1,4, 3,3±0,8 bulunmuştur. %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunundan dondur-çöz yöntemiyle elde edilen agarların verimi %9,5±3 olup, bu yosunlara sırasıyla liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer ve dondur-çöz spray dryer uygulanarak elde edilen agarların verimi sırasıyla; 12,2±1,5, 8,2±1,5, 5,2±1,4, 4,8±0,45 olarak bulunmuştur. Liyofilizatör ile kurutma işlemi dondur-çöz ile kurutmaya göre verimi bir miktar arttırdığı görülmektedir. liyofilizatör işlemine ek olarak dondur-çöz yönteminin eklenmesi ise verimde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Bunun nedeni dondur-çöz işlemi sırasında suyun dehidrasyonu sağlanırken aynı zamanda agar ekstraksiyonu içerisindeki bazı kirliliklerin suda çözünerek gitmesi olabilir. Spray dryer ile kurutma işleminin ise dondur-çöz yöntemine göre verimi oldukça düşürdüğü görülmektedir. Kullandığımız spray dryer cihazının oldukça eski ve bakımlarının yapılmamış olması bu durumu etkilemektedir.

Gracilaria'dan dondur-çöz yöntemiyle elde edilen agar agarların alkali uygulanmamış örneklerinin jel gücü 133,9±28,5 ile 200,8±52,4 arasında değişmekte olup, çamaşır suyu konsantrasyonunun artmasıyla jel gücünün azaldığı görülmüştür. Alkali muamelesi uygulanmış örneklerin jel gücü ise 209±38,8 ile 1023,8±36 arasında değişmekte olup, alkali muamelesinin genel olarak jel gücünü arttırdığı fakat konsantrasyon miktarının artmasıyla doğru orantılı olmadığı görülmüştür. %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunlarından dondur-çöz yöntemiyle elde edilen agarların jel kuvveti 376,7±163,3 ölçülürken, bu yosunlara sırasıyla liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer ve dondur-çöz spray dryer uygulanarak elde edilen agarların jel kuvveti sırasıyla; 329,6±177,5, 239,8±98,7, 344,2±30,3, 777,8±34,9 ölçülmüştür. %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunlarından dondur-çöz yöntemiyle elde edilen agarların jel kuvveti 1023,8±36 ölçülürken, bu yosunlara sırasıyla liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer ve dondur-çöz spray dryer uygulanarak elde edilen agarların jel kuvveti sırasıyla; 836,3±172, 969,9±92, 711,4±32, 849±50,8 ölçülmüştür. %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunlarının liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer yöntemleriyle kurutulması jel kuvvetinde düşmeye neden olurken, dondur-çöz spray dryer yöntemi ile kurutulması jel kuvvetinde iki katından

fazla artışa neden olmuştur.  $777,8 \pm 34,9$  g/cm<sup>2</sup> jel kuvvetine sahip bu örnek uluslararası agar pazarının kabul ettiği  $750$  g/cm<sup>2</sup>'den yüksektir. %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunlarının diğer kurutma yöntemleri ile kurutulan agarlarının jel kuvvetinde düşüş görülmüştür. Bu düşüğe rağmen hepsi ticari agar olarak kullanılabilir. Bu jel kuvvetine sahiptir.

Alkali uygulanmamış, sadece çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunlarından dondur-çöz yöntemiyle elde edilen agarların jelleşme ve erime sıcaklıkları cihaz ile ölçülemedi. Bunun nedeni jel kuvvetlerinin oldukça düşük olması olabilir. Alkali ve çamaşır suyu uygulanmış Gracilaria yosunlarından dondur-çöz yöntemiyle elde edilen agarların jelleşme sıcaklığı  $33,7 \pm 8,7$  °C ile  $41,7 \pm 5$  °C; erime sıcaklıkları  $80,2 \pm 6,7$  °C ile  $95,33 \pm 0,1$  °C arasında değişmektedir. Gelidiumdan elde edilen ticari agar ile karşılaştırıldığında Gracilaria yosunlarından elde edilen agarların jelleşme sıcaklığı daha yüksek bulunurken, erime sıcaklıkları da daha düşük bulunmuştur. En yüksek verime sahip %3 NaOH+%5 çamaşır suyu muamelesi uygulanan yosunlardan dondur-çöz yöntemi ile elde edilen agarlar  $33,7 \pm 8,7$  °C jelleşme,  $80,2 \pm 6,7$  °C erime; en yüksek jel gücüne sahip %3 NaOH+%1 çamaşır suyu muamelesi uygulanan yosunlardan dondur-çöz yöntemi ile elde edilen agarlar ise  $39,9 \pm 2,4$  °C jelleşme,  $82,6 \pm 3,4$  °C erime sıcaklığına sahip oldukları hesaplanmıştır. %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan yosunlara sırasıyla liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer ve dondur-çöz spray dryer uygulanarak elde edilen agarların jelleşme sıcaklığı;  $38,96 \pm 3,2$  °C,  $41,03 \pm 3,2$  °C,  $34,3 \pm 1,2$  °C,  $42,32 \pm 4,6$  °C ölçülürken, erime sıcaklıkları;  $86,6 \pm 1,8$  °C,  $81,6 \pm 1,6$  °C,  $90,6 \pm 1,2$  °C,  $89 \pm 0,5$  °C ölçülmüştür. %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan yosunlara sırasıyla liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer ve dondur-çöz spray dryer uygulanarak elde edilen agarların jelleşme sıcaklıkları sırasıyla;  $35,7 \pm 3$  °C,  $58,4 \pm 2,1$  °C,  $35 \pm 0,4$  °C,  $36,6 \pm 1,6$  °C ölçülürken erime sıcaklıkları sırasıyla;  $94,7 \pm 5,3$  °C,  $88,6 \pm 3,2$  °C,  $96,1 \pm 3,4$  °C,  $95,96 \pm 3,5$  °C olarak ölçülmüştür. %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanarak diğer kurutma yöntemleriyle elde edilen agarların dondur-çöz yöntemiyle elde edilen agara kıyaslandığında jelleşme ve erime sıcaklıklarında bir artış görülmüştür. %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanarak diğer kurutma yöntemleriyle elde edilen agarların dondur-çöz yöntemiyle elde edilen agara kıyaslandığında jelleşme sıcaklıklarında genel bir düşüş görülürken, erime sıcaklıklarının arttığı gözlenmiştir. Özellikle her iki konsantrasyonun da uygulandığı yosunlardan dondur-çöz yöntemiyle

elde edilen agarların ticari piyasaların kabul ettiği 85 °C'nin altında kalan erime sıcaklıkları, farklı kurutma yöntemleriyle bu değerin üzerine çıkmıştır. Kaynaklarda Gracilaria agarının jelleşme sıcaklığının 40-42 °C arasında değişirken ve erime sıcaklığının 85 °C veya üzerinde olduğu belirtilmiştir (Guiseley, 1970). Piyasalarda satılan agarın jelleşme sıcaklığı 32-45°C arasında olup, %3 NaOH+%5 çamaşır suyu ve %3 NaOH+%1 çamaşır suyu muamelesiyle elde edilen agarlarımızın jelleşme sıcaklığı bu aralıkta yer almaktadır. %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanmış yosunun dondur-çöz liyofilizatör ile kurutularak elde edilen agarın jelleşme sıcaklığı 58,4±2,1 °C olup, kabul edilemez bir sıcaklık değerindedir.

Ticari agarın pH değeri 6,98±0,7 iken, dondur-çöz yöntemiyle elde edilen agarların pH değerleri 4,43±0,6 ile 6,34±0,2 arasında değişmekte olup, hepsi ticari agarın pH değerinden daha düşük ölçülmüştür. %3 NaOH+%5 çamaşır suyu muamelesi uygulanan yosunlardan dondur-çöz yöntemi ile elde edilen agarın pH değeri 4,55±0,1 iken, %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan yosunlara sırasıyla liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer ve dondur-çöz spray dryer uygulanarak elde edilen agarların pH değerleri sırasıyla; 5,69±0,8, 5,45±0,7, 6,15±1, 6,62±0,7 ölçülmüştür. %3 NaOH+%1 çamaşır suyu muamelesi uygulanan yosunlardan dondur-çöz yöntemi ile elde edilen agarın pH değeri 5,77±1,1 iken, %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan yosunlara sırasıyla liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer ve dondur-çöz spray dryer uygulanarak elde edilen agarların pH değerleri sırasıyla; 5,38±0,2, 6,68±0,5, 6,11±0,9, 8,86±0,6 ölçülmüştür. Her iki konsantrasyondan diğer kurutma yöntemleri ile elde edilen agarların pH'ı dondur-çöz yöntemi ile elde edilen agarların pH'ından genel olarak yüksek olup, ticari agarın pH değerine yaklaştırmıştır. %3 NaOH+%1 çamaşır suyu muamelesi uygulanarak dondur-çöz spray dryer yöntemi ile kurutularak elde edilen agarın pH'ı 8,86±0,6 bulunarak ticari olarak satılan agarların olması gereken 6-8 pH değer aralığından yüksektir. Diğer tüm elde edilen agarlar literatür ve ticari agarın olması gereken pH aralıklarıyla örtüşmektedir.

Ticari agarın ham kül değeri %2,25±0,1 olup, dondur-çöz yöntemiyle elde edilen agarların ham kül değerleri %1,05±0,4 ile %2,6±0,3 arasında değişmektedir. %3 NaOH+%5 çamaşır suyu muamelesi uygulanan yosunlardan dondur-çöz yöntemi ile elde edilen agarın ham kül değeri %1,75±0,1 iken %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan yosunlara sırasıyla liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer ve

dondur-çöz spray dryer uygulanarak elde edilen agarların ham kül değerleri sırasıyla; %3,45±0,4, %1,8±0,3, %3,7±0,3, %2,4±0,1 bulunmuştur. %3 NaOH+%5 çamaşır suyu muamelesi uygulanan yosunlardan dondur-çöz yöntemi ile elde edilen agarın ham kül değeri %1,05±0,4 iken %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan yosunlara liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer ve dondur-çöz spray dryer uygulanarak elde edilen agarların ham kül değerleri sırasıyla; %2,35±0,2, %2±0,3, %2,55±0,5, %1,15±0,2 bulunmuştur. Her iki konsantrasyondan diğer kurutma yöntemleri ile elde edilen agarların ham kül değerleri dondur-çöz yöntemi ile elde edilen agarların ham kül değerinden düşük bulunmuştur. Elde edilen tüm agarların ham kül değerleri dünyadaki bazı önemli kuruluşların (FAO, EEC, USP) kabul ettiği maksimum ham kül miktarından (%6,5) da düşüktür.

Ticari agarın L\* değeri (parlaklık; 0=siyah-100=beyaz) 81, a\* (-a\*=yeşil / +a\*= kırmızı) değeri 2,64, b\* (-b\*=mavi / b\*= sarı) değeri 17,91 bulunmuştur. Dondur-çöz yöntemi ile elde edilen agarların L\* değerleri 79,74 ve 57,85 arasında değişmekte olup ticari agarın L\* değerinden düşüktür. Dondur-çöz yöntemi ile elde edilen agarların a\* değerleri 1,3 ile 5,94, b\* değerleri 9,95 ile 21,59 arasında değişmektedir. %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanan yosunlara dondur-çöz, liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer ve dondur-çöz spray dryer uygulanarak elde edilen agarların L\* değerleri sırasıyla 74,42, 74,44, 67,56, 90,51, 93,21 olarak ölçülürken, b\* değerleri sırasıyla 23,2, 17,14, 13,93, 8,89, 6,86 ölçülmüştür. %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan yosunlara dondur-çöz, liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer ve dondur-çöz spray dryer uygulanarak elde edilen agarların L\* değerleri sırasıyla 72,84, 69,42, 66,95, 92,72, 93,07, b\* değerleri sırasıyla 19,79, 12,06, 3,89, 9,45, 7,88 olarak ölçülmüştür. Her iki konsantrasyondan spray dryer yöntemleri ile elde edilen agarların L\* değeri ticari agara göre yüksek iken, b\* değerlerinin ticari agarın b\* değerinden düşüktür. Dolayısıyla spray dryer ile elde edilen agarların hem diğer Gracilaria agarlarına göre hem de ticari agara göre daha beyaz renkte olduğu görülmektedir.

Ticari agarın sertlik değeri, 3204 ±129 iken, %3 NaOH+%5 çamaşır suyu ve %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanarak elde edilen Gracilaria agarlarının sertlik değerleri 762,9±83 ile 2764 ± 597 arasında değişmekte olup, ticari agardan daha düşük bulunmuştur. Hem %3 NaOH+%5 çamaşır suyu hem de %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanmış yosunların liyofilizatör ve spray dryer ile kurutma işlemlerine ek olarak dondur-çöz yönteminin eklenmesi agarların sertlik kuvvetinde artmaya neden olduğu

görülmüştür. %3 NaOH+%5 çamaşır suyu uygulanmış yosunlardan elde edilen agarların yapışma, sakızlık ve çiğneme verilerinin ticari agar ile karşılaştırıldığında düşük olduğu görülürken, bağlanma ve dayanmanın bir miktar yüksek olduğu görülmüştür. %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanmış yosunlardan elde edilen agarların ticari agara göre yapışkanlığının düşük, bağlılık, yaylanma, dayanma verilerinin bir miktar yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Yapışma, yaylanma, bağlılık ve çiğneme verilerinin kurutma teknolojisi ile değişmemesine karşın, sakızlık ve çiğneme verilerinin klasik dondur çöz yönteminde ticari agara ve diğer kurutma yöntemlerine göre arttığı görülmüştür.

Gelidium'dan elde edilen ticari agarın viskozitesi 33,48 ölçülürken, %3 NaOH+%5 çamaşır suyu ve %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanarak elde edilen Gracilaria agarlarının viskozite değerleri  $2,6 \pm 1,3$  ile  $27,1 \pm 2,09$  arasında değişmekte olup, ticari agarın viskozitesinden düşük olduğu görülmektedir. Uluslararası belirlenen standart bir agar viskozite değeri olmadığı gibi literatürde yer alan alkali uygulanmış Gracilaria agarlarının viskozitesi düşük olup, elde edilen agarlarımız bu çalışmalar ile benzerdir. %3 NaOH+%5 çamaşır suyu ve %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanmış yosunlara alternatif kurutma yöntemleriyle elde edilen agarlarının viskozitesi dondur-çöz yöntemi ile kurutularak elde edilmiş agarların viskozitesinden yüksek bulunmuştur. Fakat liyofilizatör ve spray dryer yöntemleri arasında bir karşılaştırma yapılamamaktadır.

Gelidium'dan elde edilen ticari agar ile Gracilaria'dan elde ettiğimiz tüm agar numularının FT-IR analizindeki sülfat titreşimleri benzer pikler göstermiştir. Bu durum Gracilaria agarının düşük sülfat içeriği ile ticari olarak satılan agarlar kadar başarılı performans ortaya koyabileceğini göstermektedir.

Çalışmada hem %3 NaOH+%5 çamaşır suyu hem de %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan Gracilaria yosunlarından spray dryer ve dondur-çöz spray dryer yöntemi ile elde edilen agarlar diğer kurutma yöntemlerine göre karşılaştırıldığında ağır metal miktarları oldukça az bulunmuştur. Ayrıca Gracilaria'dan elde edilen agarların ağır metal oranları hem ticari agar hem de literatürdeki agarların ağır metal miktarları ile karşılaştırıldığında hepsi kabul edilebilir düzeyde kalmıştır.

Buraya kadar olan kalite parametlerine bakıldığında hem %3 NaOH+%5 çamaşır suyu hem %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanarak elde edilen Gracilaria

agarlarının hepsi gıda agarı için kullanılabilirliği uygun görünmektedir. Bundan sonraki parametreler %3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanarak elde edilen Gracilaria agarlarının biyoteknolojik kullanımının araştırılmasıyla alakalıdır.

Gracilaria %3Naoh+ %1 çamaşır suyu uygulanan yosunların 5 farklı yöntemle kurutularak elde edilen agarlarla hazırlanan besiyerlerine *Bacillus megaterium*, *E. Coli*, *Pseudomonas putida*, *Staphylococcus aureus* bakterileri ekilmiştir. Bu kültürlerin gelişimi hem kendi aralarında hem de Gelidium'dan elde edilen ticari agar ile karşılaştırılmıştır. Ticari agarda büyütülen mikroorganizmaların koloni çapı  $0,2\pm 0,0$  ile  $0,3\pm 0,0$  mm arasında değişirken, Gracilaria'dan geleneksel dondur-çöz yöntemiyle ve alternatif kurutma yöntemleriyle elde edilen agarlarda büyütülen mikroorganizmalar da  $0,2\pm 0,0$  ile  $0,3\pm 0,0$  mm arasında büyüme göstermiştir. Dolayısıyla Gracilaria'dan elde edilen agarlar, bakteriyel büyüme üzerinde genel inhibitör etki göstermemekle birlikte kurutma yöntemleri arasında bariz bir farkla karşılaşmamıştır.

Ticari agarda büyütülen tütün tohumlarının 60, gündeki ağırlığı  $3\pm 1,1$  gr, yaprak sayısı  $54\pm 21$  adet ölçülmüştür. %3NaOH+1%ç.s. uygulanan yosunların farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen agarlarından yapılan bitki doku kültüründe büyütülen tütün tohumlarının 60. gündeki ağırlıkları  $0,6\pm 1,4$  gr ile  $5,6\pm 2,1$  gr, yaprak sayısı  $32\pm 28$  ile  $74\pm 9$  adet arasında değişmektedir. Tütün tohumların büyümelerinde hiçbir inhibisyon etki görülmemekle birlikte tablodaki değerler oldukça değişken sonuçlar göstermiştir. Bunun nedeni; tütün tohumları oldukça küçük ve yapışkan olduğu için bitki doku kültürüne tohum ekimi sırasında her bir magentaya eşit sayıda tütün tohumlarının ekilememesidir.

%3 NaOH+%1 çamaşır suyu uygulanan yosunlardan elde edilen agarlara Provenche (1991)'in methodu uygulanarak agaroz elde edilmiştir. Dondur-çöz, liyofilizatör, dondur-çöz liyofilizatör, spray dryer, dondur çöz spray dryer yöntemleri ile kurutulmuş agarlardan elde edilen agarozların verimi sırasıyla %74,05, %63,95, %66,5, %65 ve %84,4 ölçülmüştür. Liyofilizatör yöntemi ile kurutulan agarlardan elde edilen agarozların verimi dondur-çöz yöntemine göre düşükken, dondur-çöz spray dryer ile kurutulan agardan elde edilen agaroz veriminin en yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca çalışmada elde edilen tüm agaroz verimleri literatürdekilere göre de yüksektir.

Daha önce ülkemiz kırmızı yosunlarından agar üretimini çalışan araştırmalar, sadece agarın kaynatma sonrası jelleşme parametreleri üzerine yoğunlaşmıştır. Ancak elde edilen agarın gerçek kalitesinin belirlenmesi için ön muamele, ekstraksiyon ve kurutma süreçlerinin tamamlanması ve toz haline getirilen agarın, ticari olarak satılan agar ile karşılaştırılması gerekmektedir. Bu sayede ülkemizde üretilecek agarın ticari potansiyeli ortaya koyularak rekabet şansı araştırılmalıdır.

Dünyada biyoteknolojik agarın üretildiği tek yosun *Gelidium* cinsleri olup, biyoteknolojik agar bu yosunun kültürünün yapıldığı denizler ya da havuzlardan elde edilmektedir. Dolayısı ile ülkemizde agar üretimini karşılayacak doğal bir *Gelidium* yayılımı bulunmamaktadır. Öte yandan *Gracilaria* cinsi yosunlar oldukça kirli olan Marmara denizinde geniş bir doğal yayılıma sahip olup, toplanması ve çıkarılması kolay bir malzeme haline gelmiştir. Bazı dönemler sahil şeridine yığılan bu yosunların uzaklaştırılması denizin temizlenmesi açısından da büyük öneme sahiptir. Fakat *Gracilaria* agarı düşük jel mukavemeti nedeni ile biyoteknolojik agar olarak kullanılamamakta, sadece gıda agarının üretiminde tercih edilmektedir. Yapılan bu çalışma ile %3 NaOH+%1 çamaşır suyu ile muamele edilmiş ülkemiz *Gracilaria* yosunlarından yüksek jel mukavemetine sahip agarın elde edilebileceği görülmüştür. Bu çalışma ile optimize koşullarda elde edilen *Gracilaria* agarlarının gıda, mikrobiyolojik ve biyoteknolojik kullanımının uygun olduğu, bu nedenle ülkemiz kıyılarından toplanacak yosun kaynaklarından kaliteli agar üretilbileceği gösterilmiştir.

Alternatif kurutma teknolojilerinin de test edildiği bu çalışmada elde edilen agar verimi açısından dezavantaja sahip olsa da enerji verimliliği, süreci hızlandırması ve elde edilen son ürünün kalitesi göz önüne alındığında en iyi uygulamanın spray-dryer ile kurutma yöntemi olduğu anlaşılmıştır. Kaynatma ile elde edilen agar içeren ekstraksiyonun sıcak halde cihaza verilmesi üretim sürecini oldukça kısaltmakta ve ürünün doğrudan homojen toz haline gelmesine olanak sağlamaktadır. Ancak hem cihazın eski ve bakımlarının yapılmamış olması hem de agarın jelleşmesi cihaz performansını etkilemekte, bu da elde edilen agarda verim kaybına neden olmaktadır. Yapılan testlerde püskürt-kurut ile elde edilen agarın jel gücünde bir miktar düşüşe sebep olsada, bu yöntemle elde edilmiş agarın tüm alanlarda kullanımı açısından bir sorun yaratmamıştır. Dolayısı ile özellikle püskürt kurut yönteminin agar üretim süreçlerine eklenme potansiyeli bu çalışma ile ilk kez ortaya konmuştur.

Bu çalışma ile dış ticarete bağımlı olduğumuz agar üretiminin ülkemizde kolaylıkla yapılabileceği ortaya konulmaktadır. Ancak sürdürülebilir üretim için kıyılarda alg tarımının yaygınlaştırılması ve agar üretim-kurutma süreçlerinin bilinçlendirme yolu ile aktarılması gerekmektedir. Özellikle Marmara ve Ege gibi kirlilik yaşanan denizlerdeki kırmızı yosunların toplanması hem denizlerin temizlenmesi hem de ekonomik katkı değeri olan agar ve agar temelli ürünlerin üretilmesini mümkün kılacaktır.



## KAYNAKÇA

- Abbott, I. A. (1996). *Ethnobotany of seaweeds: clues to uses of seaweeds*. [https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-94-009-1659-3\\_2](https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-94-009-1659-3_2)
- Ak İ. and Cirik Semra (2004). Distribution of *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Rhodophyta) in Izmir Bay (Eastern Aegean Sea). *Pakistan Journal of Biological Sciences*. DOI: 10.3923/pjbs.2004.2022.2023
- Ak, İ., Çetin, Z., Cirik, Ş., and Gökşan, T. (2011). *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss culture using an agricultural organic fertilizer. *Fresenius Environmental Bulletin*, 20(8a), 2156-2162.
- Alba, K., and Kontogiorgos, V. (2019). Seaweed Polysaccharides (Agar, Alginate Carrageenan). *Encyclopedia of Food Chemistry*, 240–250. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21587-4>
- Anonim, 2022a. <https://www.cnnturk.com/turkiye/kadikoyde-sahili-yine-kirmizi-yosun-sardi?page=5> (Erişim Tarihi: 20.08.2022)
- Anonim, 2022b. <http://www.biyolojiegitim.yyu.edu.tr/alg/Turkiyeflorasialgler94.pdf> (Erişim Tarihi: 20.08.2022)
- Anonim, 2022c. <https://www.indytrk.com/node/448911/t%C3%BCrki%CC%87yeden-sesler/caddebostan-sahillerine-vuran-k%C4%B1rm%C4%B1z%C4%B1-yosunlar> (Erişim Tarihi: 20.08.2022)
- Anonim, 2022d. [https://tr.wikipedia.org/wiki/K%C4%B1rm%C4%B1z%C4%B1\\_algler](https://tr.wikipedia.org/wiki/K%C4%B1rm%C4%B1z%C4%B1_algler) (Erişim Tarihi: 4.10.2022)
- Anonim, 2022e. [https://www.merckmillipore.com/TR/tr/product/Agar-agar,MDA\\_CHEM-101614](https://www.merckmillipore.com/TR/tr/product/Agar-agar,MDA_CHEM-101614) (Erişim Tarihi: 6.10.2022)
- Anonim, 2022f. <https://patents.google.com/patent/US3335127A/en> (Erişim Tarihi: 6.10.2022)
- Armisen, R. (1995). World-wide use and importance of *Gracilaria*. In *Journal of Applied Phycology* (Vol. 7). Kluwer Academic Publishers.
- Armisen, R., and Galatas, F. (2009). Agar. In *Handbook of Hydrocolloids: Second Edition* (pp. 82–107). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1533/9781845695873.82>
- Armisen, R., Sja, H., and Lopez Bravo, C. (1991). Agar and agarose biotechnological applications. In *Hydrobiologia* (Vol. 221).
- Arvizu-Higuera, D. L. , Rodriguez-Montesinos, Y. E. , Murillo-Alvarez, J. I. , M.-O. M. , & Hernandez-Carmona, G. (2008). Effect of alkali treatment time and extraction time on agar from *Gracilaria vermiculophylla*. In *J Appl Phycol* (Vol. 20).
- Aydın, A., Tomruk, A., Koç, H., Aysenur, K., Nalan, O., İlker, S., Gören, F., Gümüşpala, G., Mert, S. (2006). The list algae and seagrass of Marmara Sea and Bosphorus between 1986-1994. Arrangement by V. Aysel. *J. Black Sea/Mediterranean Environment* 12: 5-16.
- Atay, D. 1978. Deniz Yosunları ve Değerlendirme Olanakları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Başbakanlık Basımevi, 128 s., Ankara.
- Aysel V. et al (2008) Marine algae and seagrasses of Samsun (Black Sea, Turkey) *J. Black Sea/Mediterranean Environment*. 14 : 53-67
- Aysel V. ve ark. (2005) Giresun Kıyılarının Deniz Algleri ve Deniz Çayırları. *Black Sea/Mediterranean Environment Vol 11*: 241 – 255

- Aysel, V., Erduğan, H., Dural-Tarakçı, B., Okudan, E. Ş., Şenkardeşler, A., & Aysel, F. (2004). Marine Flora of Sinop (Black Sea, Turkey)\*. In *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* (Vol. 21, Issue 2). <http://jfas.ege.edu.tr/>
- Belghit, I., Rasinger, J. D., Heesch, S., Biancarosa, I., Liland, N., Torstensen, B., Waagbø, R., Lock, E. J., and Bruckner, C. G. (2017). In-depth metabolic profiling of marine macroalgae confirms strong biochemical differences between brown, red and green algae. *Algal Research*, 26, 240–249. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2017.08.001>
- Bixler, H. J., and Porse, H. (2011). A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 321–335. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9529-3>
- Bold, H.C., Wynne, M.J., 1985. Introduction to the algae structure and reproduction, second ed., Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, NJ, 07632, pp. 1–33.
- Buriyo, A. and Kivaisi, A. K. 2003. Standing stock, agar yield and properties of *Gracilaria salicornia* harvested along the Tanzanian coast. *West. Indian Ocean J. Mar. Sci.* 2: 171–8.
- Buriyo, A. and Kivaisi, A. K. 2007. Assessment of native agar gels extracted from *Gracilaria debilis* and *Gracilaria salicornia* harvested along the Tanzanian Coast for Culturing Microorganisms. *West. Indian Ocean J. Mar. Sci.* 6: 219–23.
- Cal, K., and Sollohub, K. (2010). Spray drying technique. I: Hardware and process parameters. In *Journal of Pharmaceutical Sciences* (Vol. 99, Issue 2, pp. 575–586). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/jps.21886>
- Chen H. et al. (2020) Extraction of sulfated agar from *Gracilaria lemaneiformis* using hydrogen peroxide-assisted enzymatic method. *Carbohydrate Polymers* Volume 232, 15 March 2020, 115790 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115790>
- Cirik, S., Turan, G., Ak, İ. and Koru, E. (2006) *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta) culture in Turkey, in International conference on "Coastal Oceanography and Sustainable Marine Aquaculture, Confluence and Synergy" 2 -4 May 2006, Kota Kinabalu, Sabah - Malaysia. 91 - 98.
- Cirik, Ş., Çetin, Z., Ak, I., Cirik, S. and Göksan, T. (2010) Greenhouse Cultivation of *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss and Determination of Chemical Composition. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* and 10: 559-564.
- Ciurzyńska, A., and Lenart, A. (2011). Freeze-drying - application in food processing and biotechnology - a review. In *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* (Vol. 61, Issue 3, pp. 165–171). Polish Academy Sciences. <https://doi.org/10.2478/v10222-011-0017-5>
- Edis, K. O. R. U., Cirik, S., Turan, G., İlknur, A. K., ve Başaran, A. (2008). *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss Kültürüne Farklı Işık Yoğunluklarının Etkisi. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 25(3), 187-190.
- el Gamal, A. A. (2010). Biological importance of marine algae. In *Saudi Pharmaceutical Journal* (Vol. 18, Issue 1, pp. 1–25). <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2009.12.001>
- Freile-Pelegrín, Y., and Murano, E. (2005). Agars from three species of *Gracilaria* (Rhodophyta) from Yucatán Peninsula. *Bioresource Technology*, 96(3), 295–302. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.04.010>
- Freile-Pelegrín, Y., and Robledo, D. (1997). Influence of alkali treatment on agar from *Gracilaria cornea* from Yucatán, México. In *Journal of Applied Phycology* (Vol. 9). Kluwer Academic Publishers.
- Garson, M. J. (1989). *Biosynthetic Studies on Marine Natural Products Reports* 6, 143-170. <https://doi.org/10.1039/np9890600143>

- Ghadiryantar, M., Rosentrater, K. A., Keyhani, A., and Omid, M. (2016). A review of macroalgae production, with potential applications in biofuels and bioenergy. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 54, pp. 473–481). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.10.022>
- González-Leija, J. A., Hernández-Garibay, E., Pacheco-Ruiz, I., Guardado-Puentes, J., Espinoza-Avalos, J., López-Vivas, J. M., and Bautista-Alcantar, J. (2009). Optimization of the yield and quality of agar from *Gracilariopsis lemaneiformis* (Gracilariales) from the Gulf of California using an alkaline treatment. *Journal of Applied Phycology*, 21(3), 321–326. <https://doi.org/10.1007/s10811-008-9370-0>
- Hernández G. Carmona Y. et al (2013) Conventional and alternative technologies for the extraction of algal polysaccharides. *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals* Wood head Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. 2013, Pages 475-516
- Hessami, Mohamad and Salleh, Aishah and Phang, Siew-Moi. (2018). Bioethanol a by-product of agar and carrageenan production industry from the tropical red seaweeds, *Gracilaria manilaensis* and *Kappaphycus alvarezii*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 10.22092/ijfs.2018.117104.
- Huang, T., Tu, Z. C., Wang, H., Shangguan, X., Zhang, L., Zhang, N. H., and Bansal, N. (2017). Pectin and enzyme complex modified fish scales gelatin: Rheological behavior, gel properties and nanostructure. *Carbohydrate polymers*, 156, 294-302.
- Israel, A., Goss, M.M., Friedlander, M. 1999. Effect of salinity and pH on growth and agar yield of *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* in laboratory and outdoor cultivation. *Journal Of Applied Phycology* 11. 543-549.
- Istini, S., Ohno, M., Kusunose, H. 1994. Methods of analysis for agar, carrageenan and alginate in seaweed. *Bull. Mar. Fish.*, Kochi University. No.14 pp.49-55.
- João C, Adriana L., Diana P., Ana M. M. G., Leonel Pereira, A (2020). Comprehensive Review of the Nutraceutical and Therapeutic Applications of Red Seaweeds (Rhodophyta), *Life*, 10.3390/life10030019, 10, 3, (19)
- Jung, K. A., Lim, S. R., Kim, Y., and Park, J. M. (2013). Potentials of macroalgae as feedstocks for biorefinery. *Bioresource Technology*, 135, 182–190. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.025>
- Kaba, N., ve Çağlak, E. (2006). Deniz Alglerinin İnsan Beslenmesinde Kullanılması. In *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* (Vol. 23, Issue 2). <http://jfas.ege.edu.tr/>
- Kennedy, Jennifer. (2020, August 26). What Are Red Algae? Retrieved from <https://www.thoughtco.com/red-algae-rhodophyta-2291974> (Erişim Tarihi: 20.08.2022)
- Koru, E., Cirik, S., Turan, G., Ak, İ., ve Başaran, A. (2008a). *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss Kültürüne Farklı Işık Yoğunluklarının Etkisi. In *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* (Vol. 25, Issue 3). <http://jfas.ege.edu.tr/>
- Koru, E., Cirik, S., Turan, G., Ak, İ., ve Başaran, A. (2008b). *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss Kültürüne Farklı Işık Yoğunluklarının Etkisi. In *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* (Vol. 25, Issue 3). <http://jfas.ege.edu.tr/>
- Kumar, V., & Fotedar, R. (2009). Agar extraction process for *Gracilaria cliftonii* (Withell, Millar, and Kraft, 1994). *Carbohydrate Polymers*, 78(4), 813–819. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.001>

- Lee, W. K., Lim, Y. Y., Leow, A. T. C., Namasivayam, P., Abdullah, J. O., and Ho, C. L. (2017). Factors affecting yield and gelling properties of agar. In *Journal of Applied Phycology* (Vol. 29, Issue 3, pp. 1527–1540). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-1009-y>
- Lee, W. K., Namasivayam, P., and Ho, C. L. (2014). Effects of sulfate starvation on agar polysaccharides of *Gracilaria* species (Gracilariaceae, Rhodophyta) from Morib, Malaysia. *Journal of Applied Phycology*, 26(4), 1791–1799. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0231-0>
- Li, H., Huang, J., Xin, Y., Zhang, B., Jin, Y., and Zhang, W. (2009). Optimization and scale-up of a new photobleaching agar extraction process from *Gracilaria lemaneiformis*. *Journal of Applied Phycology*, 21(2), 247–254. <https://doi.org/10.1007/s10811-008-9358-9>
- Li, H., Yu, X., Jin, Y., Zhang, W., and Liu, Y. (2008). Development of an eco-friendly agar extraction technique from the red seaweed *Gracilaria lemaneiformis*. *Bioresource Technology*, 99(8), 3301–3305. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.002>
- Lim, Y. Y., Lee, W.-K., Leow, T. C., and Namasivayam, P. (2018). *Sulfated galactans from red seaweeds and their potential applications A novel peptide that mimics diamine oxidase View project Ganoderma boninense View project*. <https://www.researchgate.net/publication/323990837>
- Liu, Y., Zhao, Y., and Feng, X. (2008). Exergy analysis for a freeze-drying process. *Applied Thermal Engineering*, 28(7), 675–690. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2007.06.004>
- Mantri, V. A., Thakur, M. C., Kumar, M., Reddy, C. R. K., and Jha, B. (2009). The carpospore culture of industrially important red alga *Gracilaria dura* (Gracilariales, Rhodophyta). *Aquaculture*, 297(1–4), 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.09.004>
- Marinho-Soriano, E. (2001). Agar polysaccharides from *Gracilaria* species (Rhodophyta, Gracilariaceae). In *Journal of Biotechnology* (Vol. 89). [www.elsevier.com/locate/jbiotec](http://www.elsevier.com/locate/jbiotec)
- Marinho-Soriano, E., and Bourret, E. (2005). Polysaccharides from the red seaweed *Gracilaria dura* (Gracilariales, Rhodophyta). *Bioresource Technology*, 96(3), 379–382. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.04.012>
- Matsushashi, T. (1990). AGAR. In *In Food gels* (pp. 1–51). Springer, Dordrecht.
- Murano, E. (1995). Chemical structure and quality of agars from *Gracilaria*. In *Journal of Applied Phycology* (Vol. 7). Kluwer Academic Publishers. <https://doi.org/10.1007/BF00003999>
- Naidu, A.S. 2000. Natural Food Antimicrobial Systems. Chapter 16: Agar. Pomona, California. ISBN: 978-0-8493-2047-7
- Ogretmen OY, Duyar H. A. (2018) The effect of different extraction methods and pre-treatments on agar yield and physico-chemical properties of *Gelidium latifolium* (Gelidiaceae, Rhodophyta) from Sinop Peninsula Coast of Black Sea, Turkey. *Journal Of Applied Phycology*, Cilt.30, Ss.1355-1360,
- Oliveira, E. C., Alveal, K., and Anderson, R. J. (2000). Mariculture of the Agar-Producing Gracilarioid Red Algae. *Reviews in Fisheries Science*, 8(4), 345–377. <https://doi.org/10.1080/10408340308951116>
- Ortiz, J., Romero, N., Robert, P., Araya, J., Lopez-Hernández, J., Bozzo, C., Navarrete, E., Osorio, A., and Rios, A. (2006). Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food Chemistry*, 99(1), 98–104. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.07.027>

- Öğretmen, Ö.Y.,(2015) Kırmızı yosun (*Gelidium latifolium*, Bornet Ex Hauck 1883)'dan Üretilen Agar Agarın Mevsimsel Kalitesinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Sinop Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama Ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Sinop.
- Öğretmen, Ö. Y., and Kaya, Y. (2019). Seasonal changes in the yield and gel properties of agar extracted from *Gelidium latifolium* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 31(5), 3091–3100. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01786-w>
- Öğretmen, Ö. Y and Kaya Y (2019) Seasonal changes in the yield and gel properties of agar extracted from *Gelidium latifolium* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 31 (5), 3091-3100
- Pandya, Y., Bakshi, M., Sharma, A., Pandya, Y. H., and Pandya, H. (2022). Agar-agar extraction, structural properties and applications: A review. *The Pharma Innovation Journal*, 6, 1151–1157. <https://www.researchgate.net/publication/361254986>
- Park, S. H., Lee, C. R., and Hong, S. K. (2020). Implications of agar and agarase in industrial applications of sustainable marine biomass. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 104, Issue 7, pp. 2815–2832). Springer. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10412-6>
- Patel, R. P., Patel, M. P., and Suthar, A. M. (2009). Spray drying technology: an overview. *Indian Journal of Science and Technology*, 2(10). <http://www.indjst.orgIndianJ.Sci.Technol>.
- Peña-Rodríguez, A., Mawhinney, T. P., Ricque-Marie, D., & Cruz-Suárez, L. E. (2011). Chemical composition of cultivated seaweed *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh. *Food Chemistry*, 129(2), 491–498. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.104>
- Pereira-Pacheco, F., Robledo, D., Rodríguez-Carvajal, L., and Freile-Pelegrín, Y. (2007). Optimization of native agar extraction from *Hydropuntia cornea* from Yucatán, México. *Bioresource Technology*, 98(6), 1278–1284. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.016>
- Popescu, M. (2013). *AGRICULTURAL USES OF SEAWEEDS EXTRACTS*. <https://natsci.upit.ro/media/1476/paper-7.pdf>
- Porse, H., and Rudolph, B. (2017). The seaweed hydrocolloid industry: 2016 updates, requirements, and outlook. *Journal of Applied Phycology*, 29(5), 2187–2200. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1144-0>
- Praiboon, J., Chirapart, A., Akakabe, Y., Bhumibhamon, O., and Kajiwara, T. (2006). Physical and chemical characterization of agar polysaccharides extracted from the Thai and Japanese species of *Gracilaria*. *Science Asia*, 32(Supplement 1), 11-17.
- Praiboon, J., Chirapart, A., Akakabe, Y., Bhumibhamon, O., Kajiwara, T. 2006. Physical and chemical characterization of agar polysaccharides extracted from the Thai and Japanese species of *Gracilaria*. *ScienseAsia* 32 Supplement 1: 11-17.
- Rameshkumar. S., C.M. Ramakritinan, K. Eswaran and, & M. Yokeshbabu. (2012). *Proximate composition of some selected seaweeds from Palk bay and Gulf of Mannar, Tamilnadu, India*. <http://www.jbiopharm.com>
- Ratana-Arporn, P., and Chirapart, A. (2006). Nutritional Evaluation of Tropical Green Seaweeds *Caulerpa lentillifera* and *Ulva reticulata*. In *Nat. Sci.* (Vol. 40).
- RB Provonchee, 1, patent number 4,990,611 (1991).
- Rodríguez, M. C., Matulewicz, M. C., Nosedá, M. D., Ducatti, D. R. B., and Leonardi, P. I. (2009). Agar from *Gracilaria gracilis* (Gracilariales, Rhodophyta) of the Patagonic coast of Argentina - Content, structure and physical properties. *Bioresource Technology*, 100(3), 1435–1441. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.08.025>

- Ross, A. B., Jones, J. M., Kubacki, M. L., and Bridgeman, T. (2008). Classification of macroalgae as fuel and its thermochemical behaviour. *Bioresource Technology*, 99(14), 6494–6504. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.036>
- Sahoo, D., and Seckbach, J. (Eds.). (2015). *The algae world*. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Santelices', B., and Doty', M. S. (1989). *A Review of Gracilaria Farming* (Vol. 78). Elsevier Science Publishers B.V.
- Setthamongkol, P., Tunkijjanukij, S., Satapornvanit, K., and Salaenoi, J. (2015). Growth and Nutrients Analysis in Marine Macroalgae. In *Nat. Sci.* (Vol. 49).
- Sheath, R. G., and Vis, M. L. (2015). Red Algae. In *Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification* (pp. 237–267). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385876-4.00005-0>
- Song E.H., Shang J. and Ratner D.M. 2012 Polysaccharides. *Polymer Science: A Comprehensive Reference Volume 9*, , Pages 137-155
- Stanley NF., 2006.“Agars”in Food Polysaccharides and their applications. In: Stephen AM, Phillips GO, Williams PA(eds.).Food Polysaccharides and their applications, second edition. CRC Press Taylor and Francis Group, BocaRaton, London, New York. pp. 217–238.
- Trivedi, T. J., and Kumar, A. (2014). Efficient Extraction of Agarose from Red Algae Using Ionic Liquids. *Green and Sustainable Chemistry*, 04(04), 190–201. <https://doi.org/10.4236/gsc.2014.44025>
- Usov, A. I. (2011). Polysaccharides of the red algae. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 65, 115–217. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385520-6.00004-2>
- V.J. Chapman, D.J. Chapman, *Seaweeds and their Uses*, 3rd edn. (Chapman and Hall, New York, 1980) 34.
- Vuai, S. A. H., and Mpatani, F. (2019). Optimization of agar extraction from local seaweed species, *Gracilaria salicornia* in Tanzania. *Phycological Research*, 67(4), 261–266. <https://doi.org/10.1111/pre.12380>
- Yenigül, M. (1993). Seasonal changes in the chemical and gelling characteristics of agar from *Gracilaria verrucosa* collected in Turkey. In *Hydrobiologia* (Vol. 260).
- Yoon, H. S., Nelson, W., Lindstrom, S. C., Boo, S. M., Pueschel, C., Qiu, H., & Bhattacharya, D. (2017). Rhodophyta. In *Handbook of the Protists: Second Edition* (pp. 89–133). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-28149-0\\_33](https://doi.org/10.1007/978-3-319-28149-0_33)
- Yousefi, M. K., Islami, H. R., and Filizadeh, Y. (2013). Effect of extraction process on agar properties of *gracilaria corticata* (rhodophyta) collected from the persian gulf. *Phycologia*, 52(6), 481–487. <https://doi.org/10.2216/13-165.1>
- Yurdakulol, E., Cansaran, D. 2004. Tohumuz Bitkiler I Laboratuvar Klavuzu. Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Döner Sermaye İşletmesi Yayınları No: 70. ANKARA
- Zainab Mohammed Al-Nahdi, Ahmed Al-Alawi, Insaaf Al-Marhobi, & Ali Al-Zefiti. (2015). Optimization of Yield and Chemical Properties of Agar Extracted from *Melanothamnus Somalensis* from Oman Sea. *Journal of Environmental Science and Engineering B*, 4(6). <https://doi.org/10.17265/2162-5263/2015.06.0>

## ÖZ GEÇMİŞ

İrem PAK Samsun Aziz Atik Anadolu Öğretmen Lisesi’ni bitirdikten sonra Üsküdar Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümünden 05.07.2019 tarihinde mezun oldu. 2020 yılında OMÜ LEE Moleküler Biyoloji ve Genetik Yüksek Lisans programına girdi. İrem PAK B2 seviyesinde İngilizce bilmektedir.

### İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0001-8250-7865

### Yayımlar:

1. Pak, İ., Yıldırım, K. (2022) “Türkiye Kıyılarından Toplanan Gracilaria Türü Kırmızı Yosunlardan Agar Üretiminin Optimize Edilmesi” 9. Uluslararası Bilimsel Çalışmalar Kongresi (UBCAK), Ağustos 03-05.

### Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. TÜBİTAK 2210-A Genel Yurtiçi Yüksek Lisans Burs Programı, Bursiyer
- 2.